

版本号: DP121221

# TIANquick Mini Purification Kit

## 超薄DNA产物纯化试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP203

### 产品内容

产品组成	DP203-02 (50preps)
平衡液BL (Buffer BL)	30 ml
结合液PB (Buffer PB)	30 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml
洗脱缓冲液EB (Buffer EB)	15 ml
吸附柱CB1 (Spin Columns CB1)	50个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个

### 储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于 2-8°C。2-8°C 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C 水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

---

## 产品简介

本试剂盒采用独特的离心吸附柱纯化酶切、PCR等反应溶液中的DNA片段，同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质，回收100 bp-10 kb DNA片段，回收率可达80%以上，最低可用少至20  $\mu$ l 的洗脱液进行洗脱，每个离心吸附柱每次可吸附的DNA量为5  $\mu$ g.特别适用于较少样品量的回收。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

## 产品特点

**快速：**整个操作过程只需十几分钟，节省时间。

**多样：**可以回收单链、双链DNA片段以及环状质粒DNA。

**高效：**独特的离心柱和精心配制的缓冲液，保证最大量回收到高纯度目的DNA。

## 注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 本试剂盒适用于无选择性的回收溶液中所有DNA片段，如需选择性回收特定片段，同时去除其他不同大小片段，请选择胶回收试剂盒。
  2. 洗脱缓冲液加量应根据回收前DNA量来决定：如回收前DNA只有1-5  $\mu$ g左右，则应选用超薄型离心柱，加20-50  $\mu$ l洗脱缓冲液；如回收前有5-20  $\mu$ g左右DNA，则应选用普通型离心柱，加30-100  $\mu$ l洗脱缓冲液；如回收前有20-30  $\mu$ g左右DNA，则应选用大量型离心柱，加50-300  $\mu$ l洗脱缓冲液。
  3. 回收率与初始DNA量和洗脱体积有关，初始量越少、洗脱体积越少，回收率越低。
  4. 对于<100 bp 和>10 kb的DNA片段可以适当增加吸附和洗脱的时间。
  5. 平衡液BL的加入能够改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性，消除高温/潮湿或其他不良环境因素对吸附柱造成的影响。使用前请先检查平衡液BL是否出现浑浊，如有混浊现象，可在37 $^{\circ}$ C水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。
  6. 用平衡液处理过的柱子最好当天使用，放置时间过长会影响效果。
-

---

## 操作步骤

使用前请先在漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1. 柱平衡步骤：向吸附柱CB1中（吸附柱放入收集管中）加入500  $\mu\text{l}$ 的平衡液BL，12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的柱子）

2. 估计PCR反应液或酶切反应液的体积，向其中加入5倍体积的结合液PB，充分混匀（无需去除石蜡油或矿物油）。

**注意：**如PCR反应体系为50  $\mu\text{l}$ （不包括石蜡油体积），则加入250  $\mu\text{l}$ 结合液PB。

3. 将上一步所得溶液加入一个吸附柱CB1中（吸附柱放入收集管中），室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400  $\times$ g)离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB1放入收集管中。

**注意：**吸附柱容积为800  $\mu\text{l}$ ，若样品体积大于800  $\mu\text{l}$ 可分批加入。

4. 向吸附柱CB1中加入600  $\mu\text{l}$ 漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400  $\times$ g)离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB1放入收集管中。

**注意：**如果纯化的DNA是用于盐敏感的实验，例如平末端连接实验或直接测序，建议PW加入后静置2-5 min再离心。

5. 重复操作步骤4。

6. 12,000 rpm (~13,400  $\times$ g)离心2 min，尽量除去漂洗液。将吸附柱置于室温放置数分钟，彻底地晾干，以防止残留的漂洗液影响下一步的实验。

**注意：**漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

---

---

7. 取出吸附柱CB1，放入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50  $\mu\text{l}$ 洗脱缓冲液EB，室温放置2 min。12,000rpm( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min，收集DNA溶液。

**注意：**洗脱液的体积不应少于20  $\mu\text{l}$ ，体积过少会影响回收的效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率也有很大影响。若后续做测序，需使用去离子水做洗脱液，并保证其pH值在7.0-8.5范围内(可以用NaOH将水的pH值调到此范围)，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在 $-20^\circ\text{C}$ ，以防DNA降解。DNA也可以用缓冲液(10 mM Tris-Cl, pH8.0)洗脱。为了提高DNA的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中，再次离心。

## DNA浓度及纯度检测

回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在 $\text{OD}_{260}$ 处有显著吸收峰， $\text{OD}_{260}$ 值为1相当于大约50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 双链DNA、40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 单链DNA。

$\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

---