



小量 DNA 产物纯化试剂盒

(Miniquick Purification Kit)

目录号: ZP201

试剂盒内容：

试剂盒组成	ZP201-01 (50 次)	ZP201-02 (100 次)	ZP201-03 (200 次)
结合液	30 ml	60 ml	120 ml
漂洗液 W2	15 ml	2×15 ml	2×30 ml
洗脱缓冲液 TE	15 ml	15 ml	30ml
吸附柱	50 个	100 个	200 个
收集管 (2 ml)	50 个	100 个	200 个
说明书	1 份	1 份	1 份

储存条件：

本试剂盒在室温 (15-25℃) 干燥条件下, 可保存 12 个月; 更长时间的保存可置于 2-8℃。(注意: 当低温贮存时, 使用前应先将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间, 必要时可在 37℃水浴中预热 10 分钟, 以平衡溶液温度)。

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，可回收100 bp–20 kb DNA片段，回收率可达80%以上（<100 bp 或>20kb 的DNA片段回收率为30 - 70%），最低可用少至20 μ l 的洗脱液进行洗脱，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（目录号 ZP202）。
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 μ g 左右，则应选用超薄型离心柱，加 20–50 μ l 洗脱缓冲液；如回收前有 5–20 μ g 左右 DNA，则应选用普通型离心柱，加 30–100 μ l 洗脱缓冲液；如回收前有 20–30 μ g 左右 DNA，则应选用大量型离心柱，加 50–300 μ 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>10kb 的 DNA 片段可以适当的增加吸附和洗脱的时间。

操作步骤：

第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在 15 ml 漂洗液 W2 中加入 55 ml 无水乙醇！所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1. 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，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 μ l（不包括石蜡油体积），则加入 250 μ l 结合液。

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

注意：吸附柱容积为 800 μ l，若样品体积大于 800 μ l 可分批加入。

3. 向吸附柱中加入 700 μ l 漂洗液 W2（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 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。重复此步骤一次。

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，建议漂洗液 W2 加入后静置 2 - 5 分钟再离心。

4. 将吸附柱放入收集管中，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟，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。

5. 取出吸附柱，放入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加 30 - 50 μl 洗脱缓冲液 TE，室温放置 2 分钟。12,000rpm($\sim 13,400\times g$)离心 2 分钟，收集 DNA 溶液。

注意：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,再洗脱一次。洗脱液的体积不应少于 30 μl ，体积过少会影响回收的效率。

洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用去离子水做洗脱液应保证其 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°C ，以防 DNA 降解。

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 OD_{260} 处有显著吸收峰， 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。