

版本号: DP210831

# TIANquick Midi Purification Kit

## 普通DNA产物纯化试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP204

### 产品内容

| 产品组成                                 | DP204-02<br>(50 preps) | DP204-03<br>(200 preps) |
|--------------------------------------|------------------------|-------------------------|
| 平衡液BL (Buffer BL)                    | 30 ml                  | 120 ml                  |
| 结合液PB (Buffer PB)                    | 30 ml                  | 120 ml                  |
| 漂洗液PW (Buffer PW)                    | 15 ml                  | 50 ml                   |
| 洗脱缓冲液EB (Buffer EB)                  | 15 ml                  | 30 ml                   |
| 吸附柱CB2 (Spin Columns CB2)            | 50个                    | 200个                    |
| 收集管 (2 ml) (Collection Tubes (2 ml)) | 50个                    | 200个                    |

### 储存条件

该试剂盒置于室温 (15-30°C) 干燥条件下, 可保存15个月。若溶液产生沉淀, 可在37°C水浴中预热10 min以溶解沉淀, 不影响效果。

---

## 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，每个离心吸附柱每次可吸附的DNA量为10 µg。

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可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 µg左右，则应选用超薄型离心柱，加20-50 µl洗脱缓冲液；如回收前有5-20 µg左右DNA，则应选用普通型离心柱，加30-100 µl洗脱缓冲液；如回收前有20-30 µg左右DNA，则应选用大量型离心柱，加50-300 µl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. 所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。
  5. 对于<100 bp 和>10 kb的DNA片段可以适当的增加吸附和洗脱的时间。
  6. 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°C水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。
  7. 用平衡液处理过的柱子应当天使用，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。

1. 柱平衡步骤：向吸附柱CB2中（吸附柱放入收集管中）加入500  $\mu\text{l}$ 的平衡液BL，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2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CB2中（吸附柱放入收集管中），室温放置2 min，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2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CB2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 ( $\sim 13,400 \times g$ )离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2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. 将吸附柱CB2放回收集管中，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min，尽量除去漂洗液。将吸附柱CB2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。**

---



TIANGEN官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

7. 将吸附柱CB2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  $\mu\text{l}$ 洗脱缓冲液EB，室温放置2 min。12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min收集DNA溶液。

**注意：**洗脱液的体积不应少于30  $\mu\text{l}$ ，体积过少会影响回收的效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，需使用ddH<sub>2</sub>O做洗脱液，并保证其pH值在7.0-8.5范围内，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，室温放置2 min，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min，将DNA溶液收集到离心管中。

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

OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH<sub>2</sub>O，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。