

HiPure DNA Clean Up Mini to Midi Kit

DNA 纯化小柱中提试剂盒

产 品 简 介

本产品适合于从各种浓度的琼脂糖凝胶中回收 60bp-20Kbp DNA 片段，此外本产品也适合于从 PCR 产物中，酶促反应液中，或由各种方法获得的粗制的 DNA(包括基因组 DNA)中回收纯化 DNA。试剂盒采用小柱中提硅胶柱纯化技术，柱子一次能容纳 15ml 液体，最高载量能达 100 μ g，可以在 50 分钟完成纯化工作。DNA 回收效率高达 80%，纯化的 DNA 可直接用于自动测序，连接，酶切，PCR，标记等。

产 品 内 容

产 品 编 号	D2011-01	D2011-02	D2011-03
次数	2 Preps	10 Preps	50 Preps
Buffer GDP	20 ml	120 ml	550 ml
Buffer DW2*	2 ml	10 ml	50 ml
Elution Buffer	1.5 ml	5 ml	30 ml
纯化大柱 F8	2	10	50
5ml 圆底离心管	2	10	50
50ml 收集管(垫片)	2	10	50

版本号：202509

保 存 条 件

本产品可以室温保存 18 个月。低温下，Buffer GDP 可能有沉淀出来，使用时须加热至 55 $^{\circ}$ C 使沉淀溶解，纯化大柱 F8 可结合 100 μ g 的 DNA。

准备事项

- 在 Buffer DW2 中，加入 4 倍体积的无水乙醇，并于室温保存。
- 水浴锅温度设至 50~55℃
- 试剂盒配套的 Buffer GDP，单次可最多处理 10g 琼脂糖凝胶块和 10ml 酶促反应液，不足的 Buffer GDP 需另外订购。
- 高盐条件下纯化大柱 F8 最大结合力 100ug。
- 若采用水平或桶状离心机时，把离心速度调至最高速度(~5000rpm)，由于水平转子离心力比较低，洗脱时死体积较大(~50μl)，建议每次加入不少于 100μl 洗脱液以充分洗脱出 DNA。使用角度离心机时，洗脱时提高离心速度至 10000rpm，可以有效减少死体积至~10μl，此时为获得更高浓度核酸，每次洗脱可以低至 60μl。
- 纯化大柱 F8 也可以采用真空抽滤过柱。

实验步骤 1: 琼脂糖凝胶 DNA 回收

1. 配制合适浓度的琼脂糖凝胶，电泳分离 DNA 片段。当 DNA 片段分离后，把凝胶放置于紫外灯下，快速切下含目的 DNA 片段的凝胶，并尽量去除多余的凝胶。称取凝胶块的重量，把凝胶块处理成小碎片并转移至合适的离心管中。
2. 按 1g 凝胶块相当 1ml 体积计算，加入 1 倍体积 Buffer GDP，颠倒混匀，50~55℃ 水浴 10~15 分钟或直到凝胶块完全溶解。水浴期间，颠倒混匀数次加速溶胶。
若凝胶块重量为 2g，则加入 2ml Buffer GDP。
3. 将纯化大柱 F8 在 50ml 收集管中，把不超过 15ml 溶胶液转移至柱子中。8,000rpm 离心 1 分钟。
第 3-5 步使用水平或桶状离心机，5000rpm 离心 2 分钟。
4. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 1.0 ml Buffer GDP 至柱子中，静置 1 分钟，8,000rpm 离心 1 分钟。
5. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 4.5 ml Buffer DW2 至柱子中，8,000rpm 离心 1 分钟。

6. 倒弃滤液，把柱子套回收集中。8,000rpm 离心 5 分钟甩干柱子。
采用水平桶状离心机，这一步建议最高速度（5000~5500rpm）离心 10 分钟甩干柱子。
7. 取出柱子，室温放置 10 分钟干燥柱子，倒弃收集管中的滤液，反扣于吸水纸上拍打吸尽残液，晾干收集管。
8. 放入一个 5ml 圆底离心管（还可以再装一个 1.5ml 离心管）至 50ml 收集管中。
9. 加入 100 μ l Elution Buffer 至纯化大柱 F8 的膜中央，放回收集中，并让柱子底部插入 5ml 离心管口，静置 2 分钟，10000 rpm 离心 1 分钟。
11000rpm 离心时柱子有~20 μ l 洗脱液残留，加入 100 μ l 洗脱时实得 85 μ l 洗脱产物。采用水平桶状离心机，离心速度可能只有 5000rpm 时，加入 100 μ l 洗脱时实得 50 μ l 洗脱产物，第二步洗脱是必须的。
10. 可选:再加入 50~100 μ l Elution Buffer 至纯化大柱 F8 的膜中央，静置 2 分钟，10000 rpm 离心 1 分钟。
11. 弃去柱子，小心用镊子或移液枪头挑出 5ml 离心管，盖好盖子，待用或保存于-20 度。

实验步骤 2：从反应液中纯化 DNA

该方案适合于从 PCR 产物，酶促反应液，或粗制的 DNA (包括基因组 DNA) 中回收纯化 DNA。该方案可高效地去除各种核苷酸，引物，引物二聚体，盐分子，酶等杂质。DNA 回收效率可高达 80~90%。以下离心都必须在室温下进行。

1. 短暂离心 PCR 产物，酶促反应液，或粗制 DNA 产物(包括基因组 DNA)。用移液枪测量其体积，并转移至灭菌的 15-50ml 离心管中。
若样品体积小于 1ml，用灭菌水调整至 1ml。高浓度的基因组 DNA 最好用灭菌水稀释至 3ml，以提高回收效率。
2. 加入 1.0 倍体积的 Buffer GDP，颠倒混匀 10-15 次，室温放置 10 分钟灭活酶物质。
 - 回收小于 100bp DNA 片段，加入等倍体积的 Buffer GDP 混匀，再加入 2 倍样品体积无水乙醇。
例：5ml DNA 产物，加入 5ml Buffer GDP，混匀静置 10 分钟，再加入 10ml 无水乙醇，颠倒混匀 10-15 次，按第 3 步进行操作。
 - 若粗制基因组 DNA 中含有色素如腐殖酸或多糖物质等，加入 1.0 倍体积的 Buffer GDP，不要

加入乙醇。

3. 将纯化大柱 F8 在 50ml 收集管中，把不超过 15 ml 混合液转移至柱子中。8,000rpm 离心 1 分钟。
第 3-4 步使用水平或桶状离心机时，5000rpm 离心 2 分钟。
4. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 4.5 ml Buffer DW2 至柱子中，8,000rpm 离心 1 分钟。
5. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。8,000rpm 离心 5 分钟甩干柱子。
采用水平桶状离心机，这一步建议最高速度（5000~5500rpm）离心 10 分钟甩干柱子。
6. 取出柱子，室温放置 10 分钟干燥柱子，倒弃收集管中的滤液，反扣于吸水纸上拍打吸尽残液，晾干收集管。
7. 放入一个 5ml 圆底离心管（还可以再装一个 1.5ml 离心管）至 50ml 收集管中。
8. 加入 100 μ l Elution Buffer 至纯化大柱 F8 的膜中央，放回收集管中，并让柱子底部插入 5ml 离心管口，静置 2 分钟，10000 rpm 离心 1 分钟。
10000rpm 离心时柱子有~20 μ l 洗脱液残留，加入 100 μ l 洗脱时实得 85 μ l 洗脱产物。采用水平桶状离心机，离心速度可能只有 5000rpm 时，加入 100 μ l 洗脱时实得 50 μ l 洗脱产物，第二步洗脱是必须的。
9. 可选:加入 50~100 μ l Elution Buffer 至纯化大柱 F8 的膜中央，静置 2 分钟，10000 rpm 离心 1 分钟。
10. 弃去柱子，小心用镊子或移液枪头挑出 5ml 离心管，盖好盖子，待用或保存于-20 $^{\circ}$ C。