



# 大量 DNA 产物纯化试剂盒

## (Maxi Purification Kit)

目录号: ZP203

### 试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP203-01 (50 次)	DP203-02 (100 次)
结合液	100ml	2×100ml
漂洗液 W2	15ml	2×15ml
洗脱缓冲液 TE	15ml	30ml
吸附柱	50 个	100 个
收集管 (250ml)	50 个	100 个
说明书	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-40 kb DNA 片段, 回收率可达 70% 以上 (<100 bp 或 >10kb 的 DNA 片段回收率为 30 - 50%)。

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. 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。
3. 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 60 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. 收集 PCR 反应液或酶切反应液，加入反应液 5 倍体积的结合液，充分颠倒混匀（无需去除石蜡油或矿物油）。

**注意：如收集的 PCR 反应物为 300  $\mu$ l（不包括石蜡油体积），则加入 1.5 ml 结合液。**

2. 将上一步所得溶液全部加入吸附柱中（吸附柱放入收集管中），室温放置 3-5 分钟，10,000 rpm 离心 2-5 分钟，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  $\mu$ l，若样品体积大于 800  $\mu$ l 可分批加入。**

3. 向吸附柱中加入 700  $\mu$ 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 100  $\mu$ l -200  $\mu$ l 洗脱缓冲液 TE，室温放置 2 分钟。12,000rpm (~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，重复步骤 5。**

**洗脱液的体积不应少于 100  $\mu$ 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 $^{\circ}$ 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<sub>260</sub> 处有显著吸收峰，OD<sub>260</sub> 值为 1 相当于大约 50  $\mu$ g/ml 双链 DNA、40  $\mu$ 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。