

HiPure DNA Size Pure Kit

DNA 片段分选纯化试剂盒

产 品 组 份

HiPure DNA Size Pure Kit

产 品 编 号	D2147-01	D2147-02	D2147-03
Package	10 Preps	50 Preps	250 Preps
Buffer ADL	10 ml	30 ml	150 ml
Buffer DW2*	10 ml	20 ml	50 ml
Elution Buffer	6 ml	10 ml	30 ml
HiPure DNA Micro Column	20	100	5 x 100
2 ml Collection Tube	20	100	500

HiPure DNA Size Pure Nono Kit

产 品 编 号	D2148-01	D2148-02	D2148-03
Package	10 Preps	50 Preps	250 Preps
Buffer ADL	10 ml	30 ml	150 ml
Buffer DW2*	10 ml	20 ml	50 ml
Elution Buffer	6 ml	10 ml	30 ml
HiPure DNA Nano Column	20	100	5 x 100
2 ml Collection Tube	20	100	500

保 存 条 件

本产品在室温下可以保存 18 个月。HiPure DNA Micro Column(D2147)可结合 15μg 的 DNA，HiPure DNA Nano Column (2148)可结合 5μg 的 DNA，。

产 品 简 介

本产品为 PCR 产物，酶促反应液的 DNA 片段分选纯化提供一条快速的解决方案。试剂盒采用硅胶柱纯化技术，适合于从 PCR 产物、限制性内切酶切体系、或其它酶促反应液中选择性回收 50bp~800bp DNA 片段。纯化的 DNA 可直接用于自动测序，二代测序，连接，酶切，PCR，标记等。

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。
- 小型高速离心机 ($\sim 10,000 \times g$)
- 1.5ml 灭菌离心管

实 验 步 骤 A（双柱，除大片段）

1. 短暂离心 PCR 产物、酶促反应产物、或其它 DNA 产物，用移液枪测量其体积，并转移至新的 1.5 或 2.0ml 离心管中，加入适量的灭菌水或 Buffer TE 至总体积为 250 μ l。
2. **加入适量体积的 Buffer ADL 至产物中，颠倒 10-15 次。**
 - 去除大片段>800bp 片段：加入 0.4 倍体积 Buffer ADL。
 - 去除大片段>700bp 片段：加入 0.5 倍体积 Buffer ADL。
 - 去除大片段>500bp 片段：加入 0.6 倍体积的 Buffer ADL。
 - 去除大片段>400bp 片段：加入 0.7 倍体积的 Buffer ADL。
 - 去除大片段>300bp 片段：加入 0.8 倍体积的 Buffer ADL。
 - 去除大片段>250bp 片段：加入 1.2 倍体积的 Buffer ADL。
 - 去除大片段>200bp 片段：加入 1.6 倍体积的 Buffer ADL。
3. 短暂离心收集管壁上的液滴。
4. **吸附大片段：**将 HiPure DNA Column 套在收集管中，把全部混合液转移至柱子中。13,000 $\times g$ 离心 30~60 秒，丢去柱子。

5. 保留滤液，加入 0.15~0.4 倍滤液体积的异丙醇，用移液枪吸打混匀几次。
 - 加入 0.4 倍滤液体积的异丙醇，回收 $\geq 50\text{bp}$ 以上的片段。
 - 加入 0.2~0.3 倍滤液体积的异丙醇，回收 100bp 以上的片段。
 - 加入 0.1~0.15 倍滤液体积的异丙醇，回收 $\geq 150\text{bp}$ 以上的片段，当 Buffer ADL 低于 0.5 倍，提高异丙醇浓度至 0.15 倍。
6. 吸附短片段：将 HiPure DNA Column 套在收集管中，把第 5 步的混合液（不超过 700 μl ）转移至柱子中。13,000 $\times$ g 离心 60 秒。
7. (可选：溶液超过 700 μl) 倒弃滤液，把柱子套回 2ml 离心管中。把剩余的溶液转移至柱子中。13,000 $\times$ g 离心 60 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中，加入 450 μl Buffer DW2 至柱子中。13,000 $\times$ g 离心 60 秒。
9. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中，加入 450 μl Buffer DW2 至柱子中。13,000 $\times$ g 离心 60 秒。
10. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中，13,000 $\times$ g 离心 2 分钟。
11. 把柱子套在 2 ml 离心管中，加入 7~30 μl Elution Buffer 至柱子膜中央，放置 2 分钟。13,000 $\times$ g 离心 1 分钟。

若需要获得最高产量，建议重复第 10 步进行第二步洗脱。重复洗脱时，可以把得到洗脱液再转移至柱子进行第二次洗脱，以获得高浓度的 DNA。

Elution Buffer 成分为 10mM Tris, pH8.5 可以用 Buffer TE 或灭菌水(pH>6.5)代替。

HiPure DNA Micro Column 最低的洗脱体积可低至 15 μl ，最佳洗脱体积建议在 15-20 μl 。

HiPure DNA Nano Column 最低的洗脱体积可低至 7 μl ，最佳洗脱体积建议在 10~15 μl 。
12. 丢去柱子，把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 。

实验步骤 B (单柱, 去除小片段)

1. 短暂离心 PCR 产物、酶促反应液、或其它 DNA 产物, 并转移至新的 1.5 或 2.0ml 离心管中, 加入适量的灭菌水或 Buffer TE 至总体积为 200 μ l, 加入适量体积的 Buffer ADL 至产物中, 颠倒 10-15 次。
 - 回收 $\geq$ 750bp 片段: 加入 0.5 倍体积 Buffer ADL。
 - 回收 $\geq$ 500bp 片段: 加入 0.6 倍体积的 Buffer ADL。
 - 回收 $\geq$ 400bp 片段: 加入 0.7 倍体积的 Buffer ADL。
 - 回收 $\geq$ 300bp 片段: 加入 0.8 倍体积的 Buffer ADL。
 - 回收 $\geq$ 250bp 片段: 加入 1.2 倍体积的 Buffer ADL。
 - 回收 $\geq$ 150bp 片段: 加入 1.0 倍体积的 Buffer ADL 和 0.2 倍体积异丙醇。
 - 回收 $\geq$ 100bp 片段: 加入 1.0 倍体积的 Buffer ADL 和 0.5 倍体积异丙醇。
 - 回收 $\geq$ 50bp 片段: 加入 1.0 倍体积的 Buffer ADL 和 1.0 倍体积异丙醇。
2. 将 HiPure DNA Micro Column 套在收集管中, 把混合液转移至柱子中。13,000 $\times$ g 离心 15~60 秒。
3. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中, 加入 450 μ l Buffer DW2 至柱子中。13,000 $\times$ g 离心 15~60 秒。
4. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中, 加入 450 μ l Buffer DW2 至柱子中。13,000 $\times$ g 离心 15~60 秒。
5. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中, 13,000 $\times$ g 离心 2 分钟。
把柱子套在 2 ml 离心管中, 加入 7~30 μ l Elution Buffer 至柱子膜中央, 放置 2~5 分钟。
13,000 $\times$ g 离心 1 分钟。
若需要获得最高产量, 建议重复第 5 步进行第二步洗脱。重复洗脱时, 可以把得到洗脱液再转移至柱子进行第二次洗脱以获得高浓度的 DNA。
Elution Buffer 成分为 10mM Tris, pH8.5 可以用 Buffer TE 或灭菌水(pH>6.5)代替。
HiPure DNA Micro Column 最低的洗脱体积可低至 15 μ l, 最佳洗脱体积建议在 15-20 μ l。
HiPure DNA Nano Column 最低的洗脱体积可低至 7 μ l, 最佳洗脱体积建议在 10~15 μ l。
6. 丢去柱子, 把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。