

## HiPure Nucleotide Removal Kit

寡聚核苷酸去除试剂盒

### 产品简介

HiPure Nucleotide Removal Kit 采用硅胶柱纯化技术，适合于从 PCR 产物、酶切体系、反转录反应(cDNA)，标记反应，酶促反应液中去除小于 17bp 寡聚核苷酸，核苷酸等杂质。纯化的 DNA 或 cDNA 可直接用于自动测序，连接，酶切，PCR，标记等。

### 产品组份

Cat.No.	D2142-01	D2142-02	D2142-03
Package	10 Preps	50 Preps	250 Preps
Buffer NP	15 ml	60 ml	250 ml
Buffer DW2*	6 ml	20 ml	2 x 50 ml
Elution Buffer	1.8 ml	10 ml	30 ml
HiPure DNA Mini Columns	10	50	250
2 ml Collection Tubes	10	50	250

### 保存条件

本产品在室温下可以保存 18 个月。

## 原理

HiPure 硅胶柱是采用高结合力的玻璃纤维滤膜为基质。滤膜在高浓度离子化剂(如盐酸胍或异硫氰酸胍)条件下, 可通过氢键和静电等物理因素吸附核酸, 而蛋白质或其它杂质不被吸附而去除。吸附了核酸的滤膜经洗涤去除蛋白质和盐, 最后用低盐缓冲液(如 Buffer TE) 或水, 洗脱出核酸。

DNA 产物和高盐结合缓冲液 Buffer NP 混匀, 高浓度的胍盐离子会变性或灭活酶分子, 转移至硅胶柱中吸附 DNA, 低于 17bp 寡聚核苷酸(dNTP), 引物二聚体, 以及酶分子等其它杂质则从柱子流出, 不被吸附。柱子再经含乙醇的洗涤液脱盐, 最后用 Elution Buffer 洗脱出 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。
- 小型高速离心机 (~13,000 x g)
- 1.5ml 离心管(RNase-Free)
- 无水乙醇

## 实验步骤:

该方案采用硅胶柱纯化方式，适合于从酶促反应物中纯化和回收 DNA，并高效去除小于 17bp 寡聚核苷酸和核苷酸等。以下离心都必须在室温下进行。

1. 用移液枪测量样品体积，并转移至灭菌的 1.5ml 离心管中。
2. **加入 10 倍体积的 Buffer NP 至样品中。**涡旋混匀 30 秒。
3. 短暂离心收集管壁上的液滴。按离心方案或负压抽滤进行操作。

### 离心方案

4. 将 HiPure DNA 柱子套在收集管中。**把混合液(第 3 步获得的)转移至柱子中。**8,000 × g 离心 30-60 秒。  
混合液超过 600µl 时，一次最多转移 600µl 至柱子中，多余的按第 5 步分次加入。
5. (可选：混合液>600µl) 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。把剩余的混合液转移至柱子中。8,000 × g 离心 30-60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 500µl Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。**8,000 × g 离心 30-60 秒。  
注：使用 Buffer DW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
7. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 500µl Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。**8,000 × g 离心 30-60 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。12,000 × g 离心 2 分钟。
9. **把柱子套在 1.5ml 离心管中，加入 10-30µl Elution Buffer 至柱子膜中央。**放置 2 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。若需要获得最高产量，建议重复第 9 步进行第二步洗脱。
10. 丢去柱子，把 DNA 保存于-20℃。

### 负压抽滤方案

4. 连接好真空泵和抽滤盒，把柱子插到抽滤盒的接口处。
5. **转移第四步混合液至柱子中。**打开真空泵进行抽滤，若混合液超过 700µl，分次转

入柱子中，至全部混合液都转移至柱子中过滤。

6. 溶液过滤完毕后，加入 500  $\mu$ l Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。

注：使用 Buffer DW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。

7. 溶液过滤完毕后，加入 500  $\mu$ l Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。溶液过滤完毕后，关闭真空泵。
8. 取下柱子，并套在收集管中。12,000  $\times$  g 离心 2 分钟。
9. 把柱子套在 1.5ml 离心管中，加入 10-30  $\mu$ l Elution Buffer 至柱子膜中央。放置 2 分钟。12,000  $\times$  g 离心 1 分钟。若需要获得最高产量，建议重复第 9 步进行第二步洗脱。
10. 丢去柱子，把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。