

## HiPure DNA Size Pure Kits

DNA 片段分选纯化试剂盒

### 产品组份

#### HiPure DNA Size Pure Kit

产品编号	D2125-01	D2125-02	D2125-03
Package	50 Preps	100 Preps	250 Preps
Buffer AXL	30 ml	60 ml	150 ml
Buffer DW2*	12 ml	24 ml	60 ml
Elution Buffer	6 ml	10 ml	30 ml
HiPure DNA Micro Column	100	200	500
2 ml Collection Tube	100	200	500

### 保存条件

本产品在室温下可以保存 18 个月。HiPure DNA Micro Column(D2120)可结合 10 $\mu$ g 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~500bp DNA 片段。纯化的 DNA 可直接用于自动测序，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 (~10,000 × 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 200 $\mu$ l。
2. **加入适量体积的 Buffer AXL 至产物中，颠倒 10-15 次。**
  - 去除大片段>800bp 片段：加入 0.75 倍体积 Buffer AXL。
  - 去除大片段>500bp 片段：加入 1.0 倍体积 Buffer AXL。
  - 去除大片段>400bp 片段：加入 1.3 倍体积的 Buffer AXL。
  - 去除大片段>300bp 片段：加入 1.6 倍体积的 Buffer AXL。
  - 去除大片段>250bp 片段：加入 2.0 倍体积的 Buffer AXL。受产物的片段占比影响，可根据样品和电泳结果调整 AXL 的加入量，以达到最佳的分选效果。
3. 短暂离心收集管壁上的液滴。
4. **去除大片段：将 HiPure DNA 柱子套在收集管中，把混合液转移至柱子中。10,000 × g 离心 30~60 秒，丢去柱子。**

5. **保留滤液，加入 0.3 倍滤液体积的异丙醇，用移液枪吸打混匀几次。**  
异丙醇的加入量也可以进行调整，以达到去除小片段的目的（50~150bp），异丙醇的加入倍建议控制滤液的 0.15-0.3 倍。
6. **吸附短片段：将 HiPure DNA Micro 柱子套在收集管中，把混合液转移至柱子中。**  
10,000 × g 离心 15~60 秒。
7. **倒弃滤液，把柱子套回收集管中，加入 600µl Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。** 10,000 × g 离心 15~60 秒。  
Buffer DW2 使用前，按瓶子上的标签指示，用无水乙醇进行稀释。
8. **倒弃滤液，把柱子套回收集管中，加入 300µl Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。** 10,000 × g 离心 2 分钟。  
取出柱子时不让柱子的底部碰到液体。若碰到液体，倒弃废液后再离心 1 分钟。对某些敏感应用(需将大部分洗脱液加入连接反应液时)：打开柱子的盖子，空气干燥 5 分钟以彻底去除乙醇。
9. **把柱子套在 2 ml 离心管中，加入 30~50µl Elution Buffer 至柱子膜中央，放置 2~5 分钟。** 10,000 × g 离心 1 分钟。丢去柱子，把 DNA 保存于 -20℃。  
若需要获得最高产量，建议重复第 9 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或第三次洗脱，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。

## 实验步骤 B（单柱，去除小片段）

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 200µl。**
2. **加入适量体积的 Buffer AXL 至产物中，颠倒 10-15 次。**
  - 回收 >800bp 片段：加入 0.75 倍样品体积 Buffer AXL。
  - 回收 >600bp 片段：加入 1 倍样品体积 Buffer AXL。
  - 回收 >400bp 片段：加入 1.3 倍样品体积的 Buffer AXL。
  - 回收 >300bp 片段：加入 1.7 倍样品体积的 Buffer AXL。
  - 回收 >250bp 片段：加入 2.0 倍样品体积的 Buffer AXL。
  - 回收 >150bp 片段：加入 1 倍样品体积 Buffer AXL 和 0.5 倍样品的异丙醇
  - 回收 >100bp 片段：加入 1 倍样品体积 Buffer AXL 和 0.7 倍样品的异丙醇

- 回收>50bp 片段：加入 1 倍样品体积 Buffer AXL 和 1 倍样品的异丙醇  
受产物的片段占比影响，可根据样品和电泳结果调整 AXL 的加入量，以达到最佳的分选效果。
- 3. 短暂离心收集管壁上的液滴。
- 4. 将 HiPure DNA Micro 柱子套在收集管中，把混合液转移至柱子中。10,000 × g 离心 15~60 秒。
- 5. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中，加入 600µl Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。10,000 × g 离心 15~60 秒。  
Buffer DW2 使用前，按瓶子上的标签指示，用无水乙醇进行稀释。
- 6. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中，加入 300µl Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。10,000 × g 离心 2 分钟。  
取出柱子时，不让柱子的底部碰到液体。若碰到液体后，倒弃废液后再离心 1 分钟。对某些敏感应用(需将大部分洗脱液加入连接反应液时)：打开柱子的盖子，空气干燥 5 分钟以彻底去除乙醇。
- 7. 把柱子套在 2 ml 离心管中，加入 30~50µl Elution Buffer 至柱子膜中央，放置 2~5 分钟。10,000 × g 离心 1 分钟。丢去柱子，把 DNA 保存于-20℃。  
若需要获得最高产量，建议重复第 8 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或第三次洗脱，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 10µl，最佳洗脱体积建议在 15-20µl。

## 常见问题

### 1. 回收效率低

- **洗脱不充分：**建议用洗脱液洗脱两次，以获得最高的回收率。洗脱液必须加入柱子的膜中央。洗脱效率取决于洗脱体积和次数。
- **试剂准备有误：**Buffer DW2 没有加入乙醇稀释或体积不准确(乙醇浓度控制在 80%)。

### 2. 连接不理想

- **乙醇污染：**洗脱 DNA 前，打开柱子的盖子，空气干燥 10~15 分钟。