



**北京博凌科为生物科技有限公司**

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: [blkwbio@blkwbio.com](mailto:blkwbio@blkwbio.com)

- ◆ 寡核苷酸纯化试剂盒
- ◆ 目录号 1304
- ◆ 使用手册
- ◆ 实验室使用，仅用于体外



---

## 寡核苷酸纯化试剂盒 Oligo Purification Kit

目录号: 1304

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次 (130401)
平衡液	室温	5ml
结合液 OB	室温	12 ml 第一次使用前按说明加指定量异丙醇
漂洗液 RW	室温	10 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free H <sub>2</sub> O	室温	10 ml
RNase-free 吸附柱 RA	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	50 个

按照指定温度储存, 12 个月内不影响使用效果。

储存事项: 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ 产品介绍:

本试剂盒使用特殊的结合缓冲液能够高效纯化 >15nt 的单链或者双链 DNA 和 RNA。特别适用于从标记反应 (地高辛标记, 同位素标记, 生物素标记等) 混合物中回收小片段标记探针, 去除未反应的核苷酸、短 oligos、染料、酶、盐离子等。典型的回收率高达 80-90%, 每个离心吸附柱每次可吸附的 DNA 量为 10 $\mu$ g。使用本试剂盒回收的 RNA 或者 DNA 可适用于 *in Situ* Hybridization、Northern blot、RNAi、Gel shift assay、Ligation、Sequencing、Microarray analysis 等实验。

---

❖ **产品特点：**

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口世界著名公司特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。
2. 使用了优质结合液，不含传统结合液的碘化钠和高氯酸盐，不抑制回收后酶切、连接克隆等下游反应。
3. 独特的配方保证了该试剂盒比一般试剂盒回收效率大大提高。并且适用于回收单链或者双链 DNA 和 RNA。
4. 快速、方便，不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀。

❖ **注意事项**

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000rpm的传统台式离心机。
2. 结合液中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水或者生理盐水冲洗。**
3. 本试剂盒适用于无选择性的回收溶液中所有核酸片段，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。
4. 虽然本试剂盒推荐用于回收小片段或者寡聚核苷酸(>15nt)，但是也可以高效回收<10kb的较大片段DNA或者RNA。
5. 回收RNA应该用本试剂盒带的RNase free H<sub>2</sub>O来洗脱。并保存在-70℃。DNA片段也可以根据需要用TE缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl，1mM EDTA，pH 8.0），如果担心EDTA可能影响下游反应，使用时可以适当稀释。或者直接（10mM Tris-HCl pH 8.0）洗脱。



## ❖ 关于平衡液的使用

1. **介绍：**核酸吸附硅胶膜柱子长期放置过程中会同空气中的电荷/尘埃发生反应而影响其核酸的结合能力。硅胶柱经平衡液预处理后可大大减少柱子中硅胶膜的憎水基团，提高核酸的结合能力。从而提高硅胶柱子回收效率或者产量。平衡液是强碱性溶液，若不小心碰到，请用大量自来水清洗。用完后需盖紧瓶盖，以免接触空气。室温保存。在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37℃ 使沉淀完全消失。
2. **什么情况下使用：**一般刚买来 2, 3 个月的新硅胶柱子不需要使用平衡液。时间存放较长吸附效率降低的硅胶柱子，可使用平衡液进行预处理来提高硅胶柱子结合能力从而提高核酸产量。或者预期片段难回收，或者回收起始量低预期产量低的情况，也可使用平衡液来提高回收效率。
3. **使用方法：**取一个新的硅胶膜吸附柱子装在收集管中，吸取 100 $\mu$ l 的平衡缓冲液至柱子中。13,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中废液，将吸附柱子重新放回收集管。此时平衡液预处理柱子完毕。接后续的操作步骤。



---

## ❖ 操作步骤

### 提示:

⇒ 第一次使用前请先在结合液 OB 瓶中加入指定量**异丙醇!**

⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 中加入指定量无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入!

1. 估计样品体积(最低体积 50 $\mu$ l, 不够可用灭菌水补足; 回收 RNA 需要用 RNase free H<sub>2</sub>O 补足), 向其中加入 10 倍体积的结合液 OB, 温和地充分混匀 (PCR 反应体系无需去除石蜡油或矿物油)。

**回收>100bp 片段时候, 只需要加 5 倍体积结合液 OB。**

2. 将上一步所得溶液加入吸附柱 RA 中 (吸附柱放入收集管中), 室温放置 1 分钟, 12,000rpm 离心 30-60 秒, 倒掉收集管中的废液。

**吸附柱最大容积为 720 $\mu$ l, 若溶液体积大于 720 $\mu$ l, 可分批加入。**

3. 加入 500 $\mu$ l 漂洗液 RW (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
4. 加入 500 $\mu$ l 漂洗液 RW, 12,000rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
5. 将吸附柱 EC 放回空收集管中, 13,000rpm 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
6. 取出吸附柱 RA, 放入一个干净的离心管中, 在**吸附膜的中间部位**加 30-50 $\mu$ l RNase free H<sub>2</sub>O, 室温放置 2 分钟, 12,000rpm 离心 1 分钟。如果需要较高浓度核酸, 可将得到的溶液重新加入吸附柱中, 离心 1 分钟。

**洗脱体积越大, 洗脱效率越高。如果需要核酸浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于 25 $\mu$ l, 体积过小降低核酸洗脱效率, 减少产量。**