

QIAquick kit PCR purification

Methods:

1. 將 _____ μl PB buffer 加入 _____ μl PCR sample 混合，體積比例為 5:1 (buffer: sample)。
 - PCR sample 與 buffer 混合前先取 3 μl 出來，其中 1 μl 測 Qubit，2 μl 測完 nanodrop 回收再跑電泳。
 - 注意 pH 指示，溶液應呈黃色。
 - 若 sample 體積過高（超過 400 μl ），請分成兩管進行純化。
2. 將 QIAquick spin column 放入所提供的 2 ml collection tube。
3. 將 700 μl sample 加入 column 中，離心 13,000 rpm，2 min，4°C。（重複三次）
4. 將過濾液移除，再將 column 放入 tube 中。
5. 將 750 μl 的 PE buffer 加入 column 中，離心 13,000 rpm，2 min，4°C。
6. 將過濾液移除，再將 column 放回 tube 中，離心 13,000 rpm，2 min，4°C。
7. 將 column 放入新的 1.5 ml 離心管中。
8. 加入 55 μl 的 ddH₂O 到 QIAquick membrane 中心，在室溫下放置 10 min。
 - Elution efficiency is depend on pH, pH7.0-8.5)
9. 離心 13,000 rpm，5min，4°C。
 - 增加靜置時間或靜置時加溫 50°C，可提高回收率。
 - 若不幸的，elute 後發現回收率很低，可嘗試將 eluent 再加回 QIAquick membrane，再次 elute。
 - 第一次 elute 後取 3 μl 出來，其中 1 μl 測 Qubit，2 μl 測完 nanodrop 回收再跑電泳。
10. 加入 55 μl 的 ddH₂O 到 QIAquick membrane 中心，在室溫下放置 10 min。
11. 離心 13,000 rpm，5min，4°C。（此為第二次 elute product）
12. 萃取之 DNA 放入 -20°C 冷凍保存。

*所有離心速度為 13,000 rpm / 17,900 xg

測 DNA 濃度（用 Qubit）

Lane	Sample	Nanodrop	260/230	260/280	Qubit con.	Total volume	Total weight	Original weight	Recover rate
1	original								
2	elute1								
3	elute2								

跑膠圖：

	original	Elute 1	Elute 2
marker		E1	E2
Band 的亮度	中	亮	淡