

版本号: DP230630

TIANGel Purification Kit

琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒 (增强型)

(离心柱型)

目录号: DP219

产品内容

产品组成	DP219-02 (50 preps)	DP219-03 (200 preps)
溶胶液PE (Buffer PE)	50 ml	200 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml	30 ml
吸附柱CA5 (Spin Columns CA5)	50个	200个
收集管(2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个	200个
切胶器 (Gel Cutter)	5个	20个

储存条件

该试剂盒所有组分置于室温 (15-30°C) 干燥条件下, 可保存15个月。若溶液产生沉淀, 使用前可在37°C水浴中预热10min以溶解沉淀, 不影响效果。

产品简介

本试剂盒采用可以高效、专一结合DNA的硅基质材料和缓冲液系统，从TAE或TBE琼脂糖凝胶上回收DNA片段，同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质，回收100 bp-15 kb DNA片段，回收率高达80%，每个离心吸附柱每次可吸附的DNA量为10 µg。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

产品特点

快速：整个操作过程快速方便，可缩短至10分钟。

多样：可以回收单链、双链DNA片段以及环状质粒DNA。

高效：独特的离心柱和精心配制的缓冲液，保证大量回收到高纯度的目的DNA。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 电泳时最好使用新的电泳缓冲液，以免影响电泳和回收效果。
 2. 如下一步实验要求较高，则应尽量使用TAE电泳缓冲液。
 3. 所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。
 4. 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对DNA造成损伤。
 5. 如果回收率较低，可在胶充分溶解后检测pH值，如pH值大于7.5，可向含有DNA的胶溶液中加入10-30 µl 3 M醋酸钠（pH5.2）将pH值调到5-7之间。
 6. 回收率与初始DNA量和洗脱体积有关，初始量越少、洗脱体积越少，回收率越低。
-

操作步骤

使用前请先在漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 将单一的目的DNA条带从琼脂糖凝胶中切下 (尽量切除多余部分) 放入干净的离心管中，称取重量。

注意：使用切胶器 (OSE-GC) 切胶时，切胶器口对准琼脂糖凝胶中的DNA条带下压切割。切胶完成后，推动中心杆，将胶块推入干净的离心管中。根据凝胶胶孔宽度可进行单次切割和连续切割。具体操作可通过扫描右侧二维码了解。



2. 向胶块中加入3倍体积溶胶液PE (如果凝胶重为0.1 g，其体积可视为100 μl ，则加入300 μl 溶胶液PE。使用切胶器切割1%的琼脂糖凝胶，单块重量约为0.06 g，实际胶块重量与凝胶浓度及厚度相关)，室温15-25 $^{\circ}\text{C}$ 溶胶5-10 min，其间不断温和地上下翻转离心管，以确保胶块充分溶解。 (若胶块的体积过大，可事先将胶块切成碎块)。

注意：对于大于5 kb以上的大片段或者是胶浓度大于1.5%的情况下，建议50 $^{\circ}\text{C}$ 加热溶胶5-10 min；胶块完全溶解后最好将溶液温度降至室温再上柱，因为吸附柱在室温时结合DNA的能力较强。

3. 将上一步所得溶液加入一个吸附柱CA5中 (吸附柱放入收集管中)，室温放置2 min，12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$)离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CA5放入收集管中。

注意：吸附柱容积为800 μl ，若样品体积大于800 μl 可分批加入。

4. 向吸附柱CA5中加入600 μl 漂洗液PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$)离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CA5放入收集管中。

注意：如果回收的DNA是用于盐敏感的实验，例如平末端连接实验或直接测序，建议PW加入后静置2-5 min再离心。

5. 重复操作步骤4。

6. 将吸附柱CA5放回收集管中，12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$)离心2 min，尽量除尽漂洗液。将吸附柱CA5置于室温放置数分钟，彻底地晾干，以防止残留的漂洗液影响下一步的实验。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 (酶切、PCR等) 实验。



TIANGEN官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

7. 将吸附柱CA5放到一个干净离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加适量洗脱缓冲液TB，室温放置2 min。12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min收集DNA溶液。

注意：洗脱体积不应小于30 μl ，体积过少影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，需使用ddH₂O做洗脱液，并保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。DNA也可以用缓冲液(10 mM Tris-Cl, pH8.0)洗脱。为了提高DNA的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400×g)离心2 min，将DNA溶液收集到离心管中。

DNA浓度及纯度检测

回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 双链DNA、40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH₂O，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。