

版本号: DP250411

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℃) 干燥条件下, 可保存15个月。若溶液产生沉淀, 使用前可在37℃水浴中预热10 min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12 min。

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15-30°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°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 (~13,400 $\times$ g) 离心30 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 (~13,400 $\times$ g) 离心30 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 (~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2-5 min，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 μ l，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 μ g/ml双链DNA、40 μ g/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。



方案在手，实验无忧
TIANGEN 分子克隆完整解决方案