

版本号: DP180810

TIANGel Midi Purification Kit

普通琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP209

产品内容

产品组成	DP209-02 (50 preps)	DP209-03 (200 preps)
平衡液BL (Buffer BL)	30 ml	120 ml
溶胶液PN (Buffer PN)	25 ml	100 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液EB (Buffer EB)	15 ml	30 ml
吸附柱CA2 (Spin Columns CA2)	50个	200个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个	200个

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于 2-8°C。2-8°C 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C 水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用可以高效、专一结合DNA的硅基质材料和独特的缓冲液系统，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。可回收100 bp-30 kb大小的片段，回收率可达80%以上，每个离心吸附柱每次可吸附的DNA量为20 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，几十分钟即可完成回收工作。

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最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. 平衡液BL的加入能够改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性，消除高温/潮湿或其他不良环境因素对吸附柱造成的影响。使用前请先检查平衡液BL是否出现浑浊，如有混浊现象，可在37°C水浴中加热数分钟，即可恢复澄清。
 2. 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。
 3. 如下一步实验要求较高，则应尽量使用TAE电泳缓冲液。
 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<100 bp及>10 kb的DNA片段时，应加大溶胶液的体积，延长吸附和洗脱的时间。
 7. 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。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1. 柱平衡步骤：向吸附柱CA2中（吸附柱放入收集管中）加入500 μl 平衡液BL，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
2. 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。
3. 向胶块中加入等倍体积溶液PN（如果凝胶重为0.1 g，其体积可视为100 μl ，则加入100 μl PN溶液），50°C水浴放置，其间不断温和地上下翻转离心管，以确保胶块充分溶解。如果还有未溶的胶块，可继续放置几分钟或再补加一些溶胶液，直至胶块完全溶解（若胶块的体积过大，可事先将胶块切成碎块）。

注意：对于回收<300 bp的小片段可在加入PN完全溶胶后再加入1/2胶块体积的异丙醇以提高回收率；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。

4. 将上一步所得溶液加入到一个吸附柱CA2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CA2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。

5. 向吸附柱CA2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CA2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。

6. 重复操作步骤5。
-

-
7. 将吸附柱CA2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CA2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。

8. 将吸附柱CA2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EB，室温放置2 min。12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)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 ($\sim 13,400 \times g$)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 $\mu\text{g/ml}$ 双链DNA、40 $\mu\text{g/ml}$ 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。
