天净沙系列

CAT#:221176

常温运输及保存

天净沙

琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒（过柱法）

Agarose Gel DNA Recovery Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本试剂盒用于从琼脂糖凝胶中或DNA反应体系中高效快速回收DNA片段，它具有下列特点:

1. 高效，回收效率最高可达90%（跟片段大小和胶浓度等因素有关)。
2. 快速，整个过程只需要十余分钟。
3. 洗柱液不需要额外加乙醇。
4. 两用，既可用于琼脂糖胶回收，也可以用于PCR或其他酶反应回收。
5. 范围广，回收DNA的长度范围为50 bp-40 Kb（但效率各不相同)。
6. 最大吸附量为10 μg。
7. 回收的DNA可直接用于酶切、连接、PCR、测序等多种分子生物学实验。
8. 本试剂盒足够纯化50片含DNA的琼脂糖凝胶条（每片胶条重量不超过250 mg)，足够纯化50次酶反应（包括PCR反应，每次体积不超过250 μL)。

规格及成分

本产品采用大扁盒包装

成份	编号	规格	包装材料
通用溶胶液	220647	25 mL	30 mL 本色瓶
吸附柱活化液	221176a	25 mL	30 mL 本色瓶
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋
DNA 洗脱液（胶回收专用）	221150	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	221176sc	1 份	无

运输及保存

常温运输及保存，有效期为一年。由于通用溶胶液是高盐溶液，因此在低温时容易产生沉淀。如果产生沉淀，需要 60℃加热溶解后才可以使用。

自备试剂

异丙醇

使用方法

1. 用自备的干净刀片切取含 DNA 片段的琼脂糖凝胶（100 mg 左右，尽可能多地把多余的胶切除，否则会影响回收效率)，放入一干净的 1.5 mL 塑料离心管中称重，按重量比为 1：2 的比例加入通用溶胶液(0.1 g 的琼脂糖凝胶需要加入 0.2 mL 的通用溶胶液)。如果琼脂糖凝胶的浓度大于 2%，则需要按 1：3 的比例加入通用溶胶液。
2. 50℃保温 10 分钟使胶完全溶化，每隔 2-3 分钟振荡数次以促进琼脂糖凝胶的溶化。如果片段长度在 300 bp 以下，建议不要 50℃保温，而是延长溶胶时间，以免 DNA 变性，影响回收率。

	3. 在等待期间，活化离心吸附柱。在离心吸附柱中加入 0.5 mL 吸附柱活化液，套上收集管后室温放置 2 分钟，然后 12,000×g 离心 2 分钟，倒弃穿透液，再将吸附柱套上收集管后待用。活化后的离心吸附柱必须在当天使用。 4. 在上柱前，在溶化的胶中加入相当于胶块体积 1/2 的异丙醇（对 100 mg 胶块，加 50 μL)，快速振荡 10 秒混匀。 5. 将溶液转移到离心吸附柱中，套上收集管，静置 3 分钟。注意：静置有助于 DNA 与离心吸附柱的硅胶膜结合。本产品提供的离心吸附柱的最大上样体积为 0.8 mL，若溶胶液的总体积大于 0.8 mL，一次加不完，可以分多次将溶液加入到吸附柱中。 6. 12000-15000×g 室温离心 1 分钟，倒掉收集管中的穿透液。 7. 加入 0.7 mL 通用洗柱液于离心柱中，12000-15000×g 离心 1 分钟，倒弃收集管中的废液。如果回收的 DNA 用于盐敏感实验（如平末端连接或直接测序）,建议加入通用洗柱液后静置 2-5 分钟再离心。 8. 12000-15000×g 离心半分钟以去除离心柱中的残留液体。 9. 将离心柱吸附置于一新的干净的塑料离心管中，加入 50 μL DNA 洗脱液于离心吸附柱硅胶膜的中央。注意：如果回收的 DNA 用于测序，则可用重蒸水洗脱 DNA。DNA 洗脱液可以也用 TE 替代，但用水或 TE 替代 DNA 洗脱液时，回收率可能稍有降低。 10. 静置 3 分钟后 12000-15000×g 离心 1 分钟。 11. 离心管底部所得溶液即为纯化的 DNA 溶液，可立即用于后续实验或者放-20℃长期保存。如果将所得 DNA 溶液再次加回到离心吸附柱中，重复洗脱过程，将得到更多的 DNA。 12. 用电泳方法或测 OD 方法确定回收所得 DNA 的浓度。如果 DNA 浓度低，也可能低于测 OD 的分光光度计的检测极限之下，此种情况下就不能用此法。
注意事项	1. 通用洗柱液含有容易挥发物质，使用后一定要拧紧瓶盖，密闭保存。 2. 琼脂糖凝胶体积的大小与回收率成反比关系，即体积越大，越不利于回收，一次胶回收以使用 100 mg 琼脂糖凝胶为宜。 3. 如果在 5-10 分钟内凝胶溶化不完全，可以适当的延长水浴时间以使胶充分溶化，否则 DNA 包裹在琼脂糖凝胶中，影响 DNA 的回收效率。 4. 胶溶化后的液体转移到离心柱后，可以延长静置时间使 DNA 与膜充分结合，提高回收效率。

	5. 洗脱 DNA 前的空甩很重要，其目的是去除膜上残留酒精，否则残留酒精会影响后续 DNA 反应。 6. 增大 DNA 洗脱液使用量有利于回收，但要注意实际上样量与最终回收体积的关系，以便于计算回收率。DNA 洗脱液可以用 TE 或水替代，但回收率稍有降低。
关联产品	PAGE DNA 回收试剂盒