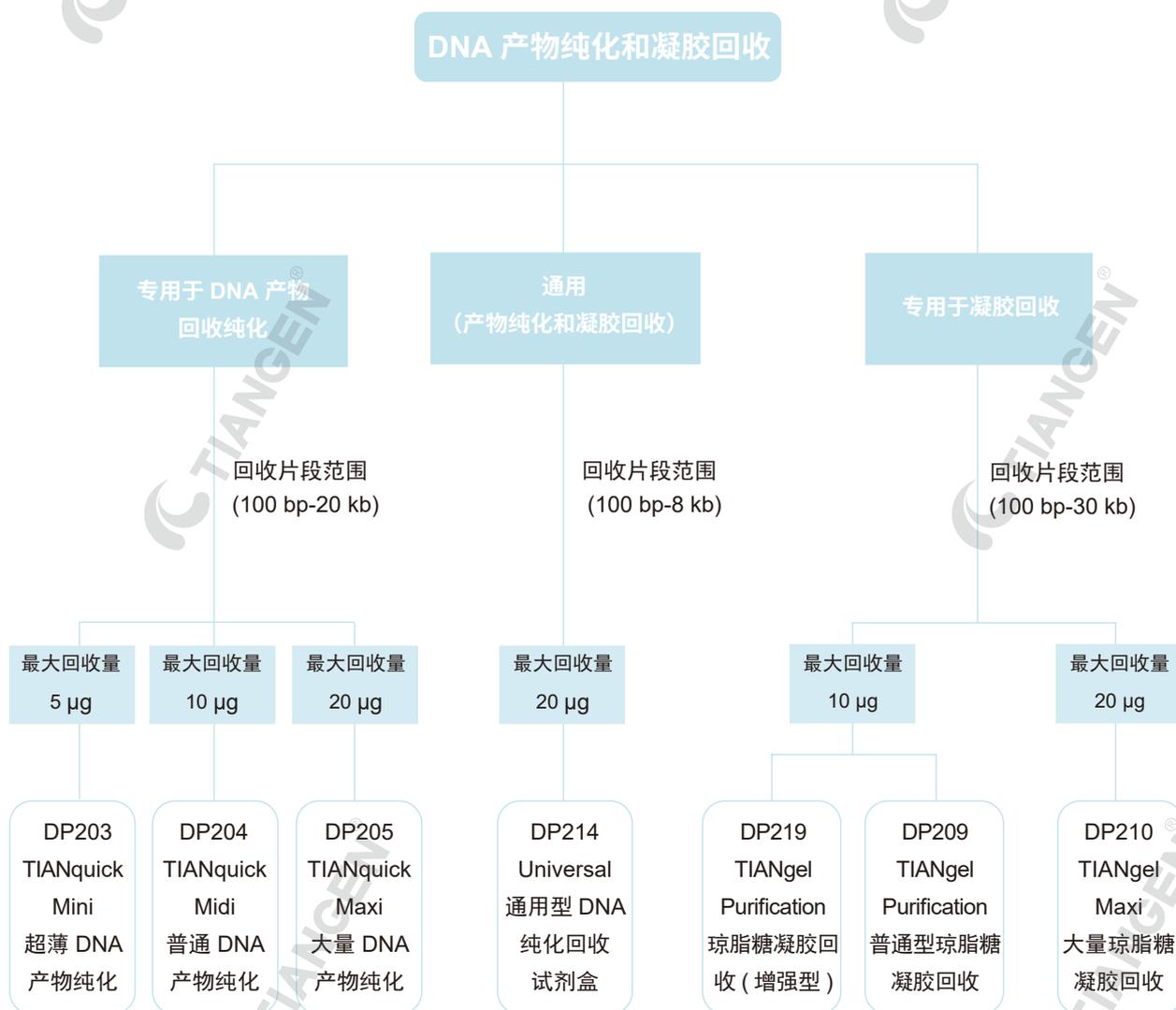


DNA 产物纯化和凝胶回收相关产品选择指南

TIANGEN 公司 DNA 产物纯化试剂盒采用可与核酸特异结合的硅胶膜，通过在高盐缓冲液中结合 DNA，及在低盐缓冲液或水中洗脱 DNA 的原理，达到纯化 DNA 产物的目的，同时去除各种蛋白质、无机盐和许多有机物等杂质。此类试剂盒适用于 DNA 溶液中只有单一 DNA 片段或溶液中所有 DNA 片段都需同时回收的情况。

TIANGEN 公司凝胶回收试剂盒采用独特的溶胶液和缓冲液系统，回收范围广，回收效率高，完全不影响后续的连接反应。



DNA 片段纯化技术简介

DNA 片段纯化回收原理

在获得 DNA 片段后，一般采用吸附材料结合的方法去除杂质和纯化 DNA 片段。目前大多数生物公司都采用硅基质吸附材料，可以特异性吸附核酸 DNA，有效去除体系中的蛋白、盐类和有机物质。

DNA 片段纯化回收的种类

根据 DNA 片段在待回收体系中是否为单一条带，可将 DNA 片段的回收分为两大类：

直接纯化

适用于有单一 DNA 片段或溶液中所有 DNA 片段都需回收的情况。一些下游实验如测序、SNP (single nucleotide polymorphism, 单核苷酸多态性) 分析等，需要从 PCR 或酶切产物中去除盐离子、dNTP、蛋白、多余引物等杂质。采用硅基质材料来吸附 DNA，既能达到纯化 DNA 的目的，又能简化整个实验进程。当我们把扩增后的 PCR 溶液加到硅基质膜上时，目的片段就会特异的结合上去，而其它如 dNTP、引物二聚体、非特异性或小于 100 bp 的片段等杂质会被过滤掉，通过后面的漂洗步骤可进一步去除多余的杂质，最后用水或者洗脱缓冲液就可以把目的 DNA 片段洗脱下来，达到纯化 DNA 的目的。

切胶纯化

适用于选择性回收溶液中多种 DNA 片段中的一种。对于后续的实验，采用切胶纯化则是很有效的方法。我们通过琼脂糖凝胶电泳可以分开特异性和非特异性条带，在紫外光照射下，快速、有效的切下目的片段所在位置的凝胶，然后通过进一步的纯化就可以得到目的片段。对于要求较高的后续实验，建议采用切胶纯化的方法，这样得到的片段较直接纯化的纯度会高一些。

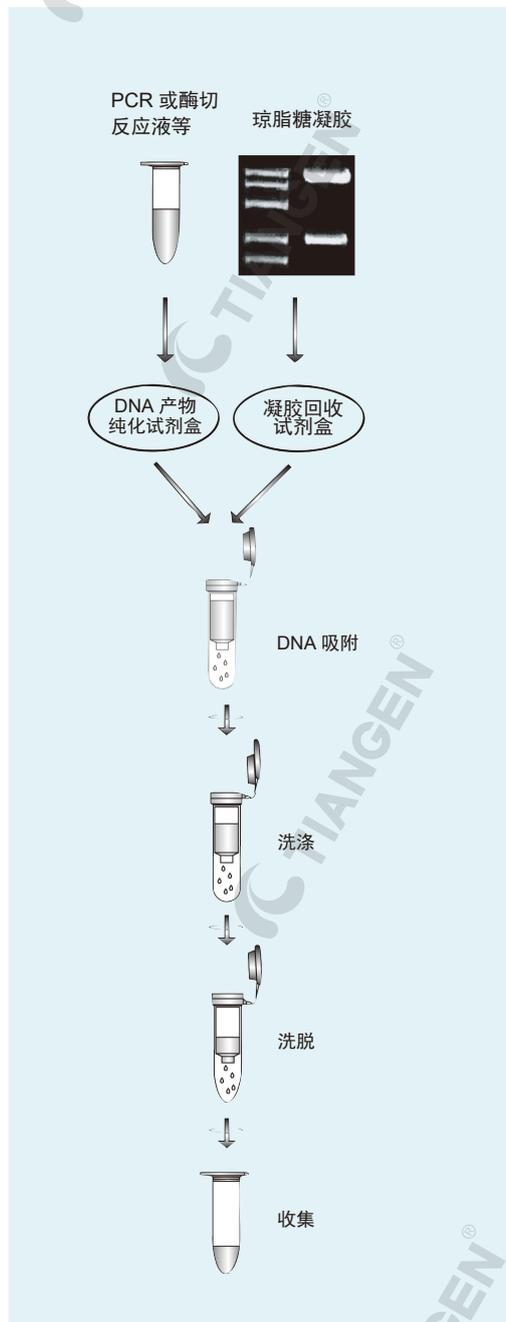
TIANGEN 公司针对以上两种纯化方法开发出 DNA 产物纯化试剂盒和凝胶回收试剂盒，可以满足不同的实验需求。特别研制的 Universal 通用型 DNA 纯化回收试剂盒，更兼容了两种回收方式的优点，极大的方便了用户，使您购买一种产品就能完成两种不同的实验。

DNA 片段回收纯化的一般流程

反应液收集

PCR 反应液

1. 如要进行后续 TA 克隆，请选用能在扩增产物末端加 A 尾的聚合酶，如 Taq 酶 (ET101) 或 HotMaster Taq 热启动酶 (ET106)。
2. 如对扩增序列保真度要求高，请选用具高保真扩增能力的聚合酶，如 pfu 高保真聚合酶 (EP101)。
3. 由高保真聚合酶 pfu 扩增得到的 PCR 产物不带 A 尾，可选用 pLB 零背景快速克隆试剂盒 (VT205/206) 进行高效克隆。



酶切反应液

1. 酶切时所加的 DNA 溶液体积不能太大，否则 DNA 溶液中其他成分会干扰酶切反应；
2. 双酶切反应条件选择可由两种酶的反应温度以及反应 buffer 来决定：
 - 从反应温度考虑，应按照先低温后高温的顺序进行；
 - 从反应 buffer 考虑，应按照先低盐后高盐的顺序进行。

电泳检测

琼脂糖凝胶电泳

琼脂糖凝胶电泳是一种非常简便、快速、常用的分离纯化和鉴定核酸的方法。根据琼脂糖的溶解温度，把琼脂糖分为一般琼脂糖和低熔点琼脂糖。低熔点琼脂糖的熔点为 62-65℃，溶解后在 37℃ 下维持液体状态约数小时，主要用于 DNA 片段的回收、质粒与外源性 DNA 的快速连接等。

DNA 在琼脂糖凝胶中的迁移速率与琼脂糖浓度、DNA 分子量及构象、电泳缓冲液、电场强度等因素有关。一般来说，DNA 片段越大或琼脂糖浓度越大，其迁移速率越小；而电场强度越高，其迁移速率越大。不同浓度琼脂糖凝胶 DNA 分离范围见表 1。

表 1 线状 DNA 分子在不同浓度琼脂糖凝胶中的分离范围

琼脂糖凝胶浓度 (%)	线状 DNA 分子分离范围 (kb)
0.3	5-60
0.6	1-20
0.9	0.5-7
1.2	0.4-6
1.5	0.2-3
2.0	0.1-2

分子生物学实验中常用的电泳缓冲液主要有三种：TAE (Tris- 乙酸盐缓冲液)、TBE (Tris- 硼酸盐缓冲液)、TPE (Tris- 磷酸盐缓冲液)。TBE 与 TPE 缓冲容量高，DNA 分离效果好，但 TPE 会导致 DNA 片段回收时含磷酸盐浓度高，容易使 DNA 沉淀。TAE 缓冲容量低，但价格较便宜。三种缓冲液成分及其部分性质见表 2。

表 2 常用电泳缓冲液性质比较表

	溶液成分	贮液浓度	工作浓度	特性
TAE	40 mM Tris- 乙酸盐 1 mM EDTA	50×	1×	价格便宜， 缓冲容量低
TBE	45 mM Tris- 硼酸盐 1 mM EDTA	5×	0.5×	缓冲容量高
TPE	90 mM Tris- 磷酸盐 2 mM EDTA	10×	1×	

核酸电泳指示剂

核酸电泳常用的指示剂有溴酚兰及二甲苯青两种。溴酚兰在碱性液体中呈紫兰色，在 0.6%、1%、1.4% 和 2% 琼脂糖凝胶电泳中，溴酚兰的迁移率分别与 1 kb、0.6 kb、0.2 kb 和 0.15 kb 的双链线性 DNA 片段大致相同。二甲苯青的水溶液呈兰色，它在 1% 和 1.4% 琼脂糖中电泳时，其迁移速率分别与 2 kb 和 1.6 kb 的双链线性 DNA 大致相似。溴酚兰和二甲苯青在不同浓度琼脂糖凝胶和非变性聚丙烯酰胺凝胶中的迁移率见表 3。

指示剂一般与蔗糖、甘油或聚蔗糖 400 组成载样缓冲液。载样缓冲液的作用有：①增加样品密度，使其比重增加，以确保 DNA 均匀沉入加样孔内。②在电泳中形成肉眼可见的指示带，可预测核酸电泳的速度和位置。③使样品呈色，加样操作更方便。

表 3 指示剂在不同浓度琼脂糖凝胶中的迁移率

琼脂糖胶浓度	溴酚兰 **	二甲苯青 **
0.6%	1 kb	/
1%	0.6 kb	2 kb
1.4%	0.2 kb	1.6 kb
2%	0.15 kb	/

注: ** kb 数是指和色素移动相同距离的 DNA 片段长度。

核酸电泳染色剂

核酸电泳后, 需经染色才能显现出带型, 常用的是溴化乙锭染色法, 其次是银染法, 安全染料。

传统染料

1. 传统染料溴化乙锭 (ethidium bromide, EB) 染色法: EB 是一种荧光染料, EB 分子可嵌入核酸双链的碱基对之间, 在紫外线激发下, 发出红色荧光。根据情况可在凝胶电泳液中加入终浓度为 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 的 EB, 有时亦可在电泳后, 将凝胶浸入该浓度的溶液中染色 10-15 min。琼脂糖凝胶 EB 染色, 肉眼可见核酸电泳带, 其 DNA 量一般大于 20 ng, 当溴化乙锭太多, 凝胶染色过深, 核酸电泳带看不清时, 可将凝胶放入蒸馏水浸泡 30 min 后再观察。
2. 银染法: 银染染色液中的银离子 (Ag^+) 可与核酸形成稳定的复合物, 然后用还原剂如甲醛使 Ag^+ 还原成银颗粒, 可把核酸电泳带染成黑褐色。主要用于聚丙烯酰胺凝胶电泳染色, 也用于琼脂糖凝胶染色。其灵敏度比 EB 高 200 倍, 但银染色后, DNA 不宜回收。

新型核酸染料

核酸染色是核酸研究的重要组成部分, 溴化乙锭 (EB) 是核酸研究中常用的染料, 因其自身存在的缺点, 目前研究者正不断推出新的核酸染料, 这些新型核酸染料可以代替 EB 广泛使用, 从而减少大量使用 EB 对人体的危害和对环境的污染。

花菁类染料: 具有安全、灵敏等优点, 可以代替溴化乙锭 (EB) 作为各种核酸电泳的染色剂。较之于 EB, 花菁类染料其诱变能力大大降低, 使用安全, 可有效保护实验操作者和环境。GeneGreen (RT210) 是 TIANGEN 公司开发的新型核酸染料, 适用于紫外凝胶成像系统或蓝色可见光激发的凝胶观察装置。

核酸分子量标准

DNA 电泳一定要使用 DNA Marker 或者已知大小的正对照 DNA 来估计 DNA 片段大小。应该选择在目标片段大小附近 ladder 较密的 Marker, 这样对于目标片段大小的估计才比较准确。TIANGEN 的 DNA Marker 有 MD100 和 MD200 系列。MD100 系列是由单一条带混合而成, 每种分子量标准中都有一条加亮条带, 上样 6 μl , 普通条带 DNA 含量为 50 ng, 加亮条带 DNA 含量为 100 ng, 可以用来估计目的 DNA 的含量。MD200 系列是传统的酶切分子量标准, 由单一的质粒 DNA 或噬菌体 DNA 经单个限制性内切酶完成消化后, 加热灭活而成。

DNA 片段纯化

根据电泳结果, 确定待回收的 DNA 片段在回收体系中是否为单一条带后, 可分别选择不同的 DNA 片段纯化试剂盒。如果目的 DNA 片段在回收体系中为特异的单一条带, 则可以选择 DNA 产物纯化回收试剂盒; 如果在回收体系中除目的 DNA 片段外还有其它非特异性 DNA 片段, 则需要选择琼脂糖凝胶回收试剂盒。

超薄 DNA 产物纯化试剂盒

TIANquick Mini Purification Kit

—从少量 PCR 反应液或酶反应液中高效获得高纯度产物 DNA

目录号	包装	价格
DP203-02	50 次	240 元

产品包装

试剂盒组成	50 次
平衡液 BL	30 ml
结合液 PB	30 ml
漂洗液 PW	15 ml
洗脱缓冲液 EB	15 ml
吸附柱 CB1	50 个
收集管 (2 ml)	50 个

保存条件

室温 (15-30℃) 保存

产品简介

本试剂盒使用独特的离心吸附柱高效、专一地与 DNA 片段结合，同时大幅度除去蛋白质、离子及引物小片段等杂质。除了可用于 PCR 产物回收，对于一些酶反应液回收（酶切、连接、探针标记等）也同样适用。可回收 100 bp-20 kb DNA 片段，回收率可高达 80% 以上（< 100 bp 或 > 10 kb 的 DNA 片段，回收率为 30%-50%）。得到的 DNA 可直接用于连接、转化、酶切、测序、杂交等分子生物学实验。

产品特点

- 速度快：15 min 完成 DNA 回收，可同时处理多个样品，节省时间。
- 步骤少：操作简单，几次离心即可完成。
- 效率高：独特的离心柱和精心配制的缓冲液保证每次能够大量回收到纯度极高的目的 DNA。
- 处理量：每个离心吸附柱每次吸附的 DNA 载量为 5 μg。

大量 DNA 产物纯化试剂盒

TIANquick Maxi Purification Kit

—轻松从大量 PCR 反应液或酶反应液中高效获得高纯度产物 DNA

目录号	包装	价格
DP205-02	50 次	300 元

产品包装

试剂盒组成	50 次
平衡液 BL	30 ml
结合液 PB	60 ml
漂洗液 PW	15 ml
洗脱缓冲液 EB	15 ml
吸附柱 CB3	50 个
收集管 (2 ml)	50 个

保存条件

室温 (15-30℃) 保存

产品简介

本试剂盒使用独特的离心吸附柱高效、专一地与 DNA 片段结合，同时大幅度除去蛋白质、离子及引物小片段等杂质。除了可用于 PCR 产物回收，对于一些酶反应液回收（酶切、连接、探针标记等）也同样适用。可回收 100 bp-20 kb DNA 片段，回收率可高达 80% 以上（< 100 bp 或 > 10 kb 的 DNA 片段，回收率为 30%-50%）。得到的 DNA 可直接用于连接、转化、酶切、测序、杂交等分子生物学实验。

产品特点

- 速度快：15 min 完成 DNA 回收，可同时处理多个样品，节省时间。
- 步骤少：操作简单，几次离心即可完成。
- 效率高：独特的离心柱和精心配制的缓冲液保证每次能够大量回收到纯度极高的目的 DNA。
- 处理量：每个离心吸附柱每次吸附的 DNA 载量为 20 μg。

普通 DNA 产物纯化试剂盒

TIANquick Midi Purification Kit

—独特的离心柱和缓冲液使目的 DNA 回收率高达 80%以上

目录号	包装	价格
DP204-02	50 次	240 元
DP204-03	200 次	860 元

产品包装

试剂盒组成	50 次	200 次
平衡液 BL	30 ml	120 ml
结合液 PB	30 ml	120 ml
漂洗液 PW	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液 EB	15 ml	30 ml
吸附柱 CB2	50 个	200 个
收集管 (2 ml)	50 个	200 个

保存条件

室温 (15-30°C) 保存

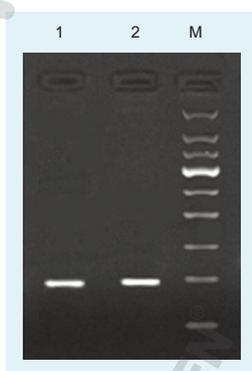
产品简介

本试剂盒使用独特的离心吸附柱高效、专一地与 DNA 片段结合, 同时大幅度除去蛋白质、离子及引物小片段等杂质。除了可用于 PCR 产物回收, 对于一些酶反应液回收 (酶切、连接、探针标记等) 也同样适用。可回收 100 bp-20 kb DNA 片段, 回收率可高达 80% 以上 (< 100 bp 或 > 10 kb 的 DNA 片段, 回收率为 30%-50%)。得到的 DNA 可直接用于连接、转化、酶切、测序、杂交等分子生物学实验。

产品特点

- 速度快: 15 min 完成 DNA 回收, 可同时处理多个样品, 节省时间。
- 步骤少: 操作简单, 几次离心即可完成。
- 效率高: 独特的离心柱和精心配制的缓冲液保证每次能够大量回收到纯度极高的目的 DNA。
- 处理量: 每个离心吸附柱每次至多可吸附的 DNA 量为 10 µg。

实验例



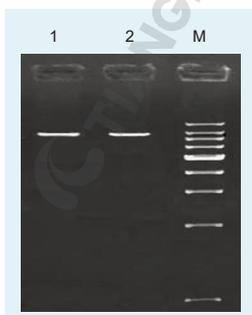
TIANGEN DNA 产物纯化试剂盒 (DP204) 回收 100 bp DNA 片段结果。
50 µl 洗脱, 3 µl 上样

琼脂糖凝胶浓度为 2.5%, 6 V/cm, 电泳 20 min;

M: TIANGEN 50 bp DNA Ladder;

1: 回收后;

2: 回收前。



TIANGEN DNA 产物纯化试剂盒 (DP204) 回收 8 kb DNA 片段结果。

50 µl 洗脱, 3 µl 上样

琼脂糖凝胶浓度为 1%, 6 V/cm, 电泳 20 min;

M: TIANGEN 1 kb DNA Ladder;

1: 回收后;

2: 回收前。

普通琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒

TIANGel Midi Purification Kit

—高达 80% 的回收率轻松快速完成胶回收

目录号	包装	价格
DP209-02	50 次	270 元
DP209-03	200 次	980 元

产品包装

试剂盒组成	50 次	200 次
平衡液 BL	30 ml	120 ml
溶胶液 PN	25 ml	100 ml
漂洗液 PW	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液 EB	15 ml	30 ml
吸附柱 CA2	50 个	200 个
收集管 (2 ml)	50 个	200 个

自备试剂

无水乙醇

保存条件

室温 (15-30℃) 保存

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, 回收 100 bp-30 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。

产品特点

- 快速: 整个操作过程快速方便, 十几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, 保证大量回收到高纯度的目的 DNA。

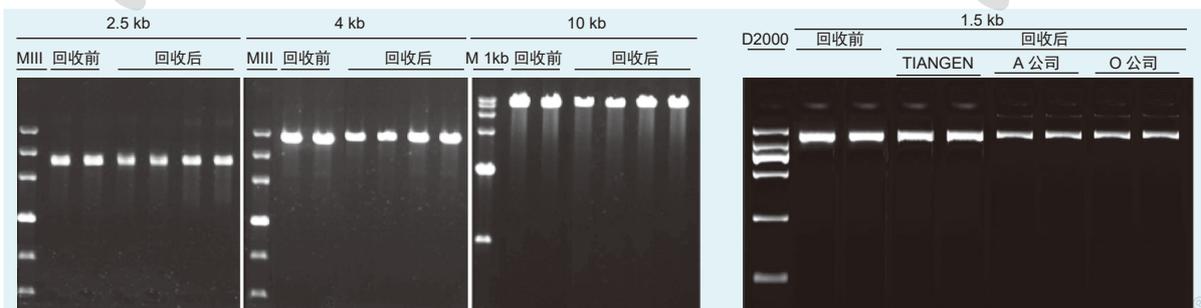
下游应用

- 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。

实验例

回收效率高回收片段范围广 (10 kb 长片段仍有很好的回收率)

较同类产品性能更佳



TIANGEN 凝胶回收试剂盒 (DP209) 回收 2.5 kb、4 kb、10 kb (左图), 1.5 kb (右图) 片段结果。50 μl 洗脱, 3 μl 上样, 琼脂糖凝胶浓度 1%, 6 v/cm, 电泳 30 min。

注意事项

- 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。
- 电泳时应该使用新的电泳缓冲液, 以免影响电泳和回收效果。
- 如下一步实验要求较高, 则应尽量使用 TAE 电泳缓冲液。
- 切胶时, 紫外照射时间应尽量短, 以免对 DNA 造成损伤。
- 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。
- 回收 <100 bp 及 >10 kb 的 DNA 片段时, 应加大溶胶液的体积, 延长吸附和洗脱时间。
- 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。

琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒 (增强型)

TIANGel Purification Kit

—室温溶胶，快速高效完成胶回收

目录号	包装	价格
DP219-02	50 次	280 元
DP219-03	200 次	980 元

产品包装

试剂盒组成	50 次	200 次
溶胶液 PE	25 ml	100 ml
漂洗液 PW	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液 TB	15 ml	30 ml
吸附柱 CA5	50 个	200 个
收集管 (2 ml)	50 个	200 个
切胶器	5 个	20 个

自备试剂

无水乙醇

保存条件

室温 (15-30°C) 干燥条件下保存

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，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。

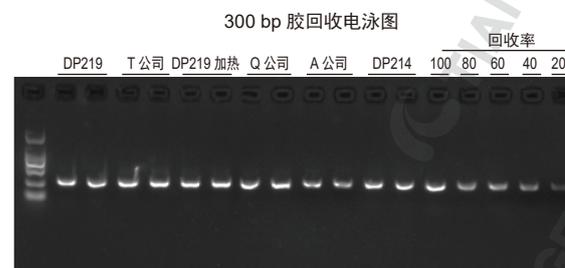
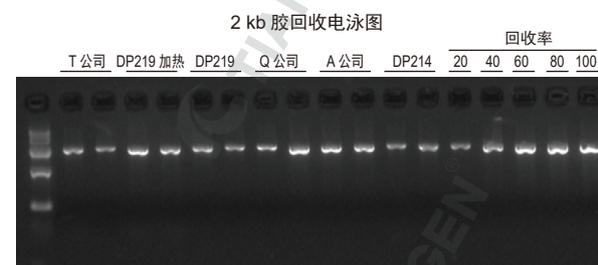
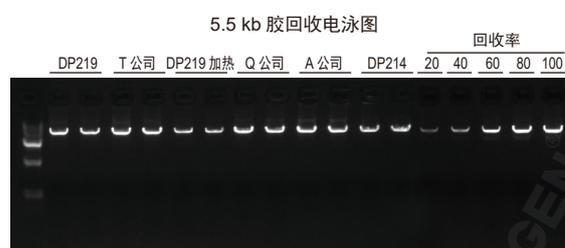
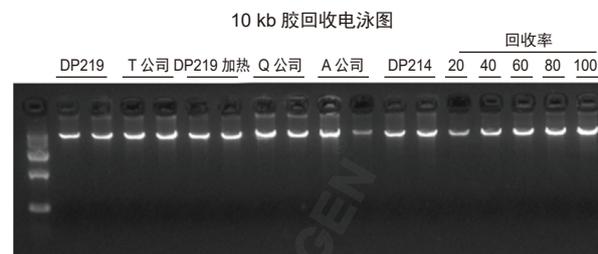
产品特点

- 快速：整个操作过程快速方便，十几分钟即可完成回收工作。
- 便捷：无需平衡液，室温溶胶。
- 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。

下游应用

- 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。

实验例



TIANGEN 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒 (增强型) (DP219) 试剂盒以及竞品回收不同长度 DNA 片段结果。50 μl 洗脱，3 μl 上样。

大量琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒

TIANGel Maxi Purification Kit

— 高效回收硅胶膜使您轻松快速完成大量产物胶回收

目录号	包装	价格
DP210-02	50 次	300 元

产品包装

试剂盒组成	50 次
平衡液 BL	30 ml
溶胶液 PN	2 × 25 ml
漂洗液 PW	15 ml
洗脱缓冲液 EB	15 ml
吸附柱 CA3	50 个
收集管 (2 ml)	50 个

自备试剂

无水乙醇

保存条件

室温 (15-30°C) 保存

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, 回收 100 bp-30 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 20 μg。

产品特点

- 快速: 整个操作过程快速方便, 十几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, 保证大量回收到高纯度的目的 DNA。

下游应用

- 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。

通用型 DNA 纯化回收试剂盒

Universal DNA Purification Kit

— 一个盒子, 两种用途, 溶液颜色监控, 纯化实验更轻松

目录号	包装	价格
DP214-02	50 次	380 元
DP214-03	200 次	1180 元

产品包装

试剂盒组成	50 次	200 次
溶液 PC	25 ml	100 ml
平衡液 BL	30 ml	120 ml
漂洗液 PW	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液 EB	15 ml	30 ml
吸附柱 CB2	50 个	200 个
收集管 (2 ml)	50 个	200 个

保存条件

室温 (15-30°C) 保存

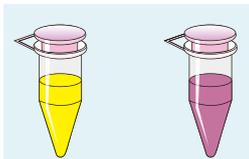
产品简介

本试剂盒采用独特的缓冲体系和离心吸附柱, 既可从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段, 又可用于直接纯化 PCR 产物, 能够满足多种实验需要。溶胶液 PC 中含有 pH 指示剂, 可根据颜色来判断溶胶状态。使用本产品可回收 100 bp-8 kb 大小的 DNA 片段, 回收率可达 80%。使用本试剂盒回收的 DNA 可直接用于连接、转化、酶切、测序等分子生物学实验。

产品特点

- 兼容性强: 既可用作 DNA 产物直接纯化, 又可用作 DNA 凝胶回收。
- 操作简便、可回收胶体量大: 可按照胶块与溶胶液等比进行溶胶。
- 稳定、可靠: 配有指示剂, 可直观判断影响 DNA 吸附的 pH 值, 又可保证 DNA 与膜充分结合, 提高回收效率。

pH 指示剂



PC 溶液中含有 pH 指示剂, 当 pH 值适合时溶液颜色为黄色, 此时 DNA 才能有效与膜结合。如果胶完全溶解后溶液颜色为紫色, 请使用 10 μl 3M 乙酸钠 (pH 5.0) 将溶液的颜色调为黄色后进行操作。

DNA产物纯化和凝胶回收相关试剂

目录号	产品名称	包装	价格
RK106-01	结合液 PB	30 ml	70 元
RK106-03		120 ml	250 元
RK108-01	溶胶液 PN	25 ml	60 元
RK108-02		100 ml	180 元
RK113-01	漂洗液 PW	15 ml	20 元
RK113-02		50 ml	48 元
RK120-02	洗脱缓冲液 EB	30 ml	30 元
RK110-01	溶液 PC	25 ml	100 元
RK110-02		100 ml	350 元
RK150-01	平衡液 BL	30 ml	30 元
RK150-03		120 ml	110 元
RK125-B	吸附柱 CB1	50 个	150 元
RK126-B	吸附柱 CB2	50 个	150 元
RK127-B	吸附柱 CB3	50 个	150 元
RK126-A	吸附柱 CA2	50 个	150 元
RK125-A	吸附柱 CA1	50 个	150 元
RK127-A	吸附柱 CA3	50 个	150 元

Q&A DNA 产物纯化常见问题分析

Q 回收率低或为零

A-1 漂洗缓冲液中没加入乙醇

——在使用前应确保乙醇已加入漂洗液 PW 中。

A-2 吸附材料上有乙醇残留

——洗脱时硅胶膜上有漂洗缓冲液残留，因含乙醇会降低洗脱效率。在洗脱前可通过再次离心或置于 50°C 温箱中 5-10 min，彻底去除漂洗缓冲液。

A-3 洗脱缓冲液 pH 值偏低

——DNA 只在低盐 buffer 中才能被洗脱，如洗脱缓冲液 EB (10 mM Tris·Cl, pH 8.5) 或水。洗脱效率取决于 pH 值，最大洗脱效率在 pH 7.0-8.5 间，当用水洗脱时确保其 pH 值在此范围内。

A-4 洗脱液加入位置不正确

——洗脱液应加在硅胶膜中心部位以确保洗脱液会完全覆盖硅胶膜的表面，达到最大洗脱效率。

A-5 初始 DNA 量太低

——保证回收量大于 1 μg，先富集 DNA 片段，保证效率。

A-6 PB 的加入量未严格按初始体积 5 倍加入

——严格按照初始 5 倍量加入。

Q DNA 质量不好

A 洗脱产物含有乙醇残留

——洗脱时硅胶膜上有漂洗缓冲液残留，会使洗脱产物中含有乙醇，影响下游操作。在洗脱前可通过再次离心或置于 50°C 温箱中 5-10 min，彻底去除漂洗缓冲液。

Q&A 琼脂糖凝胶 DNA 回收常见问题分析

Q 未回收或回收率低

A-1 胶块未全部溶解

——溶解凝胶时应置于 55°C 水浴，不断上下颠倒，确定胶块完全溶解后再进行下一步骤。如果胶浓度较大，可增加溶胶液使用量。

A-2 胶块太大 (>400 mg)

——如果需要处理的胶块太大，应先将其切成小块，做两次回收或选用大量型回收试剂盒。

A-3 电泳缓冲液 pH 值太高

——硅胶膜在高盐及低 pH 值 (pH ≤ 7.5) 时可结合 DNA，在低盐及高 pH 值 (pH ≥ 8) 条件下洗脱。如果电泳缓冲液 pH 值太高，会导致 DNA 无法结合或降低结合率。可在溶胶后加入 10 μl NaAc (pH 5.0)，将 pH 值调至 7.5 以下。

A-4 漂洗液中未加无水乙醇

——第一次使用前应在漂洗液中加入无水乙醇。漂洗液每次用后应拧紧瓶盖，以免乙醇挥发，降低回收率。

A-5 洗脱缓冲液不合适

——DNA 只在低盐溶液中才能被洗脱，如洗脱缓冲液 EB (10 mM Tris·Cl, pH 8.5) 或水。洗脱效率取决于 pH 值。最大洗脱效率在 pH 7.0-8.5 间。当用水洗脱时确保其 pH 值在此范围内。

A-6 洗脱缓冲液未加在离心柱中间

——尤其使用少量洗脱缓冲液时，应加在离心柱正中间，并放置 1-2 min，再离心。

A-7 DNA 片段量少

——保证 DNA 量大于 1 μg，若初始片段很少要先富集。

A-8 未按胶实际体积加 PN

——按胶实际体积加入等体积 PN。

Q 回收后的片段无法用于后续实验，如连接等

A-1 洗出液中含乙醇

——洗脱时硅胶膜或硅胶树脂上有漂洗缓冲液残留，会使洗脱产物中含有乙醇，影响下游操作。在洗脱前可通过再次离心或置于 50°C 温箱中 5-10 min，彻底去除漂洗缓冲液。

A-2 洗出液中污染有琼脂糖

——凝胶未全部溶解。

A-3 洗脱产物含有 ssDNA，表现为在琼脂糖电泳上呈小弥散带

——将洗脱产物 95°C 加热 2 min，慢慢冷却到室温，使单链 DNA 重新退火复性即可。

部分使用 TIANGEN DNA 产物纯化回收产品发表的文献列表

题目	期刊	IF	使用产品	单位
Precise gene replacement in rice by RNA transcript-templated homologous recombination	Nature Biotechnology	31.864	凝胶回收	中国农科院作物所
Induction of OTUD4 by viral infection promotes antiviral responses through deubiquitinating and stabilizing MAVS	Cell Research	17.848	DNA 产物纯化	武汉大学
CRISPR-Cas9-mediated base-editing screening in mice identifies DND1 amino acids that are critical for primordial germ cell development	Nature Cell Biology	17.728	通用型	中科院上海生化细胞所
A microRNA-inducible CRISPR-Cas9 platform serves as a microRNA sensor and cell-type-specific genome regulation tool	Nature Cell Biology	17.728	通用型	北京大学分子医学所
CoBATCH for High-Throughput Single-Cell Epigenomic Profiling	Molecular Cell	14.548	DNA 产物纯化	北京大学
N6-Methyladenine DNA Modification in the Human Genome	Molecular Cell	14.548	通用型	广州医科大学第三附属医院
Structural basis of the arbitrium peptide-AimR communication system in the phage lysis-lysogeny decision	Nature Microbiology	14.3	DNA 产物纯化	华中农业大学
Resistance to nonribosomal peptide antibiotics mediated by d-stereospecific peptidases	Nature Chemical Biology	12.154	通用型	香港科技大学
Functional genomics reveal gene regulatory mechanisms underlying schizophrenia risk	Nature Communications	11.878	凝胶回收	中科院昆明动物所
Nuclear Nestin deficiency drives tumor senescence via lamin A/C-dependent nuclear deformation	Nature Communications	11.878	通用型	中山大学医学院
Functional genomics reveal gene regulatory mechanisms underlying schizophrenia risk	Nature Communications	11.878	凝胶回收	中科院昆明动物所
The indica nitrate reductase gene OsNR2 allele enhances rice yield potential and nitrogen use efficiency	Nature Communications	11.878	凝胶回收	中国农科院水稻所
Expanding C-T base editing toolkit with diversified cytidine deaminases	Nature Communications	11.878	通用型	中科院上海神经所
6mA-DNA-binding factor Jumu controls maternal-to-zygotic transition upstream of Zelda	Nature Communications	11.878	通用型	中科院动物所
Histone demethylase KDM3A is required for enhancer activation of hippo target genes in colorectal cancer	Nucleic Acids Research	11.147	通用型	武汉大学
Capping-RACE: a simple, accurate, and sensitive 5' RACE method for use in prokaryotes	Nucleic Acids Research	11.147	通用型	华中农业大学
DNA-mediated dimerization on a compact sequence signature controls enhancer engagement and regulation by FOXA1	Nucleic Acids Research	11.147	凝胶回收	中科院广州生物医药与健康研究院
Ai-lncRNA EGOT enhancing autophagy sensitizes paclitaxel cytotoxicity via upregulation of ITPR1 expression by RNA-RNA and RNA-protein interactions in human cancer	Molecular Cancer	10.679	通用型	哈尔滨医科大学肿瘤医院
DPPA2/4 and SUMO E3 ligase PIAS4 opposingly regulate zygotic transcriptional program	PLOS Biology	8.386	DNA 产物纯化	北京大学
AcrIIA5 Inhibits a Broad Range of Cas9 Orthologs by Preventing DNA Target Cleavage	Cell Reports	7.815	DNA 产物纯化	中科院生物物理所
Intrinsic Nucleotide Preference of Diversifying Base Editors Guides Antibody Ex Vivo Affinity Maturation	Cell Reports	7.815	通用型	中科院上海生化细胞所