



产品信息

Thermo Scientific

GeneJET 胶回收试剂盒

#K0691, #K0692

批号_____

有效期_____

www.thermoscientific.com/fermentas

分析证书

根据本手册中提供的方法, 通过从2%的琼脂糖凝胶中回收 100bp 的 DNA 片段以及从 1% 的琼脂糖凝胶中回收 5.5kb 的 DNA 片段来对该试剂盒进行检测。所回收 DNA 的质量已通过以下方法得到检测, 包括分光光度检测、琼脂糖凝胶电泳检测、运用 Thermo Scientific 快速限制性内切酶检测以及自动测序检测。

质量授权人:



Jurgita Zilinskiene

目录

页码

试剂盒组成.....2

储存和稳定性.....2

产品介绍.....2

基本原理.....3

重要提示.....3

所需额外试剂和仪器.....3

纯化方案.....4

问题解决方案.....6

安全信息.....8

参考文献.....8

试剂盒组成

GeneJET 胶回收试剂盒	50 preps #K0691	250 preps #K0692
结合液	30 ml	150 ml
漂洗液（浓缩）	9 ml	45 ml
洗脱液（10mM Tris-HCl, PH8.5）	15 ml	30 ml
GeneJET 回收柱（预装入收集管）	50	250

储存和稳定性

Thermo Scientific GeneJET 胶回收试剂盒室温下（15-20℃）可储存 12 个月，在 4℃ 条件下可储存 12 个月以上。若储存过程中缓冲液出现沉淀，在使用前需在 37℃ 条件下进行再溶。

产品介绍

Thermo Scientific GeneJET 胶回收试剂盒旨在从经 TAE 或 TBE 电泳缓冲液电泳的标准或低熔点琼脂糖凝胶中快速高效地回收 DNA 片段。

试剂盒回收柱中采用了基于硅膜的专利技术。该试剂盒可用于回收 25 bp 到 20 kb 大小的 DNA 片段。在 100 bp—10 kb DNA 片段大小范围内回收率高达 95%（如图 1）。每个 GeneJET 回收柱拥有结合 25 µg DNA 的能力，能处理多达 1 g 的琼脂糖凝胶。回收整个流程仅需 15 分钟，回收的 DNA 能够直接用于下游的常规实验，如连接、限制性酶切、PCR、测序以及标记。

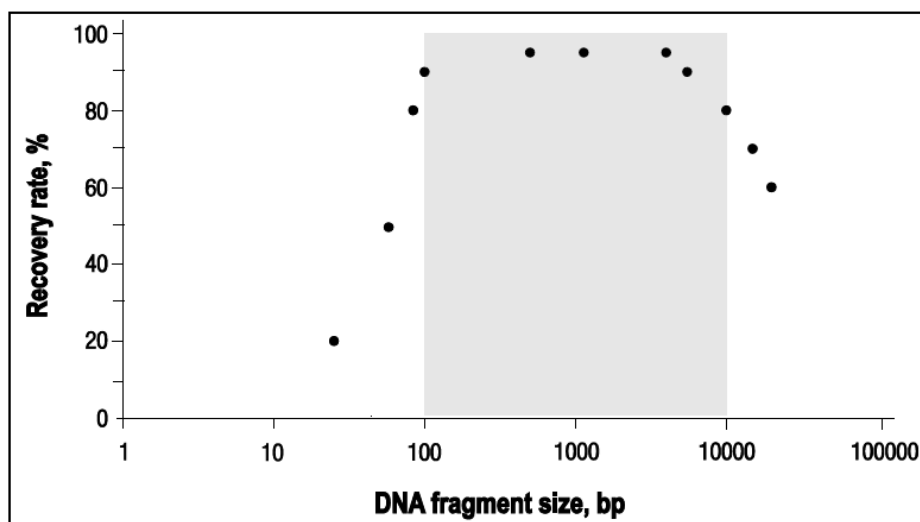


图 1 不同大小 DNA 片段的回收率

基本原理

从琼脂糖凝胶中切出目的 DNA 片段，置于离心管中，加入结合液进行溶解，之后转入回收柱中。结合液中的促溶剂溶解琼脂糖、使蛋白变性、促使 DNA 结合于回收柱中的硅膜上。结合液中含有颜色指示剂，能够方便监测溶液 PH 是否最为适合 DNA 结合。通过简单的漂洗步骤能够去除杂质。纯化的 DNA 通过加入洗脱液从回收柱中洗脱出来。回收的 DNA 能够直接应用于下游的实验。

重要提示

- 试剂盒启用时，先用无水乙醇（96-100%）稀释漂洗液（浓缩的）：

	50 preps #K0691	250 preps #K0692
漂洗液（浓缩的）	9ml	45ml
无水乙醇	45ml	225ml
总体积	54ml	270ml

加入无水乙醇后，请在试剂瓶做好已加入乙醇标记。

- 每次使用结合液前检查其是否出现沉淀。若出现沉淀，加热至 37℃ 以重新溶解，冷却至 25℃ 时再使用。
- 由于结合液含有刺激物，使用时请戴好手套。
- 若回收的 DNA 片段直接用于测序，电泳时请勿重复使用电泳缓冲液。

所需额外试剂和仪器

乙醇 96-100%

异丙醇

3M 的乙酸钠，PH 5.2（可能需要）

离心机

1.5ml 或者 2ml 离心管

金属浴或水浴锅

纯化方案

注：

- 开始前请阅读第 3 页的重要提示。
- 所有的纯化步骤在室温下进行。
- 使用台式离心机，转速大于 12000×g（10000-14000rpm，取决于转子类型）。

步骤	过程
1	用干净的手术刀或刀片切下含有目的 DNA 片段的凝胶。切胶时尽量切出多余的凝胶。将含 DNA 的胶块置于已预称重的 1.5ml 离心管后称重。记下胶块的重量。 注： 若回收的 DNA 片段用于克隆，须避免紫外照射损伤 DNA。尽量减少紫外暴露时间或者紫外照射时将凝胶置于玻璃或塑料板上。
2	向胶块中加入 1:1 体积的结合液 （体积：重量）（比如，100 mg 的凝胶中加入 100 μ l 的结合液）。 注： 对于浓度大于 2% 的琼脂糖凝胶，向胶块中加入 2:1 体积的结合液。
3	将凝胶混合物在 50-60℃ 条件下放置 10 min ，直到胶块完全溶解。每隔几分钟颠倒离心管，以加快溶解过程。必须确保凝胶完全溶解。加入回收柱前短暂涡旋凝胶混合物。 注意观察溶液的颜色。黄色指示 DNA 结合最佳 PH。如果溶液颜色为橙色或紫色，加入 10 μ l 3M 的乙酸钠溶液，混合物的颜色将变为黄色。
4 对于≤500bp 和>10kb 的 DNA 片段	可选： 此步骤适用于≤500bp 和>10kb 的 DNA 片段。 • 若 DNA 片段≤500bp，向溶解的凝胶溶液中加入 1:2 体积的异丙醇（例如，100 mg 凝胶溶于 100 μl 结合液时，加入 100 μl 异丙醇），混合均匀。 • 若 DNA 片段>10kb，向溶解的凝胶溶液中加入 1:2 体积的水（例如，100 mg 凝胶溶于 100 μl 结合液时，加入 100 μl 水），混合均匀。
5	将 800 μ l 溶解的凝胶溶液（来自步骤 3 和 4）转移至 GeneJET 回收柱。离心 1 分钟。倒掉废液并将柱子放回收集管。 注： 如果凝胶溶液总体积超出 800 μ l，可以分步将其加入回收柱。每次加入后离心 30-60 s 并弃掉废液，直至加入所有凝胶溶液。每个回收柱不能超过 1 g 的琼脂糖凝胶。
6	可选： 此步骤适用于回收的 DNA 直接用于测序。 向 GeneJET 回收柱中加入 100 μl 结合液 。离心 1 分钟，倒掉废液并将柱子放回收集管。
7	向 GeneJET 回收柱中加入 700 μl 漂洗液 （用无水乙醇稀释，见第 3 页）。离心 1 分钟，倒掉废液并将柱子放回收集管。
8	将空的回收柱再离心 1 分钟，以完全除去残留的漂洗液。 注： 此步骤是为了避免回收的 DNA 中残留乙醇。若 DNA 中残留乙醇，可能会抑制下游的酶促反应。

9	将 GeneJET 回收柱转入新的 1.5 ml 离心管（未提供）。向回收柱中膜中心加入 50 μl 洗脱液。离心 1 分钟。 注： • 若 DNA 量较低，可适当减少洗脱体积以增加 DNA 浓度。洗脱体积在 20-50 μl 之间不会明显减少 DNA 产量。但不推荐洗脱体积少于 10 μl。 • 如果 DNA 片段>10 kb，洗脱液在加入回收柱之前应预热至 65℃。 • 如果洗脱体积是 10 μl，DNA 量$\leq$5μg，在室温时放置 1 分钟再离心。
10	弃掉 GeneJET 回收柱，回收的 DNA 储存于-20℃。

问题解决方案

问题	可能的原因及解决方案
DNA 回收率低	含 DNA 的胶块未能完全溶解 确保按照 1:1 的量将结合液加入已称重的凝胶块（例如，100 mg 的琼脂糖凝胶中加入 100 μl 的结合液）。 确保凝胶块完全溶解。较大的琼脂糖凝胶或浓度大于 2% 的琼脂糖凝胶需要额外的时间来溶解。在某些情况下，较大体积的结合液和额外的涡旋能够加速溶解过程。 DNA 结合率低 注意观察胶块溶解后溶液的颜色。黄色指示 DNA 结合的最佳 PH。如果溶液颜色为橙色或紫色，加入 10μl 3M 的乙酸钠溶液，混合物的颜色将变为黄色。 漂洗不充分 确保向漂洗液（浓缩）首次使用时加入推荐体积的无水乙醇。 DNA 洗脱率低 将洗脱液加入到回收柱膜的中心，不要加到回收柱管壁上。 使用 20-50 μl 的洗脱液，并确保洗脱液能完全覆盖膜的表面。 当回收较大量的 DNA (>15μg)，可将洗脱液体积加倍，或者洗脱两次。 在步骤 8 中，确保去除所有的残留漂洗液。 较长时间的离心有助于去除漂洗液。
琼脂糖凝胶孔中无 DNA	存在残留的乙醇 在步骤 8 中，确保去除所有的残留漂洗液。 较长时间的离心有助于去除漂洗液。
测序结果不好	回收电泳缓冲液的影响 如果提取的 DNA 直接用于测序，凝胶制备和凝胶电泳都应用新鲜的电泳缓冲液。

下游实验不成功	残留乙醇的影响 在步骤 8 中，确保去除所有的残留漂洗液。较长时间的离心有助于去除漂洗液。 膜漂洗不充分 在漂洗过程中，若收集管中液体过满，一些漂洗液会残留于 GeneJET 回收柱的底部。为避免此种情况，每次离心后应倒掉收集管中废液。 琼脂糖污染 确保步骤 1-4 中凝胶块完全溶解。保证按 1:1 的比例加入结合液。较大量的琼脂糖凝胶或浓度大于 2% 的琼脂糖凝胶需要额外的时间来溶解。在某些情况下，较大体积的结合液和额外的涡旋能够加速溶解过程。 过量盐分污染 确保步骤 7 完整有效进行。加入漂洗液后放置几分钟后再进行离心。
---------	---

参考文献:

- 1.Vogelstein, B. and Gillespie, D., Preparative and analytical purification of DNA from agarose, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 615-619, 1979.
- 2.Marko, M.A., Chipperfield, R. and Birnboim, H.C., A procedure for the large-scale isolation of highly purified plasmid DNA using alkaline extraction and binding to glass powder, Anal. Biochem., 121, 382-387, 1982.
- 3.Boom, R., Sol, C.J.A., et al., Rapid and simple method for purification of nucleic acids, J. Clin. Microbiol., Mar, 495-503, 1990.

安全信息



结合液

辨别危险的成分标签：盐酸胍

Xn 有害

风险术语

R20/21/22 吸入、与皮肤接触和吞食是有害的；

R32 与酸接触释放出极高毒性气体；

R52/53 对水生生物有害，可能在水生环境中造成长期不利影响；

安全术语

S9 保持容器在通风良好的场所；

S23 请勿吸入气体/烟雾/蒸汽/喷雾

S36/37 穿戴合适的防护服和手套

S60 该物质及其容器必须作为危险废物处置

S61 避免释放到环境中，参考特别指示/安全数据说明书；

产品使用限制

本产品的开发、设计及销售专供研究和体外试验使用。本产品不得用于诊断试验或药物开发，也不适合向人或动物注射。

了解本产品的材料安全数据表，请浏览 www.thermoscientific.com/onebio。

©2012 Thermo Fisher Scientific 公司，版权所有。所有商标均归 Thermo Fisher Scientific 公司或其子公司所有。