

# M5 Gel Extraction Kit (with column) 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPure Gel Extraction Kit	50T	MF029-01
M5 HiPure Gel Extraction Kit	200T	MF029-04

## 【储存条件】

常温运输，室温（15~30℃）保存，保质期一年。如需长期保存，可将各试剂组分置于 2~8℃，使用时如发现结晶，可于 37~55℃ 水浴加热助溶。离心吸附柱不建议低温或大于 30℃ 保存，否则可能影响吸附效率。

## 【产品简介】

M5 Hipure 胶回收试剂盒利用硅基质材料在高盐缓冲系统对 DNA 高效、专一吸附的原理，配备聚合美自主研发的膜结合液（又称溶液液）和高性能的硅胶膜离心吸附柱，可在 15 分钟内清除凝胶、核酸染料及其他杂质，高效回收 DNA 片段。本试剂盒配套的膜结合液和离心吸附柱的最大吸附量为 20μg，对 100 bp~10 kb 线性双链 DNA 片段的回收效率可高达 50~90%，也可用于单链 DNA 片段和质粒 DNA 的纯化。因回收率受 DNA 片段大小、浓度等因素的综合影响，故应尽量加大电泳的 DNA 片段浓度，以提高回收率。回收后的 DNA 片段可以直接用于酶切、连接、测序、标记、杂交和体外转录等多种分子生物学实验。

## 【回收效率】

线性 DNA 片段大小	回收效率
50 bp	30~50%
100 bp ~ 200 bp	50~70%
200 bp ~ 5 kb	70~90%
5 kb ~ 10 kb	50~70%

## 【产品组份】

	50T	200T	注意事项
膜结合液（MB）	25ml	100ml	初次使用前请按瓶标说明加入无水乙醇混匀
膜漂洗液（MW）	15ml	60ml	
洗脱缓冲液（EB）	10ml	30ml	
平衡液（BL）	25ml	100ml	请使用当天平衡液处理过的吸附柱
离心吸附柱及收集管	50 套	200 套	室温密闭干燥保存

## 【实验准备】

用户需自行准备的材料：含 DNA 样品的琼脂糖凝胶，无水乙醇，异丙醇，55℃ 水浴，切胶设备，台式离心机。

**初次使用本试剂盒，请按瓶标说明向膜漂洗液（MW）中加入相应体积的无水乙醇（用户自备），并在试剂瓶上做标记。**

## 【操作步骤】

**柱平衡：**向吸附柱中（吸附柱放入收集管中）加入 400 μl 的平衡液 BL，12,000 rpm (-13,400xg) 离心 1 min，弃收集管中滤液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的柱子）

（请大家别嫌这步麻烦，它是为了盒子放置时间长不用，处理一下效果如新，减少浪费。如果新开封马上用，可以不做柱平衡）

1. **切胶。**用干净刀片将目的 DNA 条带切下，尽量切除不含 DNA 的凝胶。

**注意：**紫外线对 DNA 片段有损坏作用，切胶要迅速，避免长时间照射，同时做好眼睛及皮肤的防护。

2. **称重。**将切下的含有目的 DNA 条带的凝胶切成小块，放入 1.5 ml 塑料离心管中，称重。

**注意：**先称一个空的 1.5 ml 塑料离心管的重量，然后放入凝胶块再称一次，两次重量相减得到凝胶的重量。

3. **溶胶。**加入等体积膜结合液（MB），60℃水浴，每隔 2 ~ 3 min 上下振荡，直到凝胶完全溶解。

**注意：**如凝胶重量为 100 mg，其体积可视为 100 ul，则加入 100 ul 膜结合液；如凝胶浓度大于 2%，所用膜结合液体积加倍；对于北京市昌平区回龙观龙域北街 10 号院 1 号楼四层 422-1 室（创集合大楼）

热线电话：（86）010-59724293

**回收<300 bp 的小片段或者大于 3000bp 的大片段，必须在凝胶完全溶解后再加入 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. **吸附。**待溶液冷却后加入离心吸附柱中，室温静置 2 min，让 DNA 片段与吸附柱中的硅胶膜充分结合，然后 12,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中滤液。

**注意：**如总体积超过 750 ul 可分 2 次将溶液加入同一离心吸附柱中；为增加目的 DNA 片段的洗脱浓度，也可将多管溶液加入同一离心吸附柱中。

5. **清洗。**加入 600 ul 的膜漂洗液 (MW)，12,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中废液。

**注意：**膜漂洗液 (MW) 按要求加入乙醇，用后应立即盖紧瓶盖，以防酒精挥发；如后续实验要求纯度较高，可再清洗一次。

6. **干燥。**将离心吸附柱于 12,000 rpm 离心 2 min，甩干残留漂洗液。

**注意：**此步不能省略，否则残留乙醇会影响后续实验。

7. **洗脱。**将离心吸附柱置于一个新的 1.5 ml 塑料离心管中，在吸附柱中央加入 30 ~ 50 ul 洗脱缓冲液 (EB)，室温放置 2 min。12,000 rpm 离心 1 min 收集 DNA 片段。

**注意：**为增加回收效率，可将洗脱液在 60°C 预热，也可将得到的溶液重新加入到离心管中，室温放置 2 min，再次离心收集。如需使用去离子水洗脱，可用 NaOH 调整其 pH 值在 7.0 ~ 8.5 之间)。

## 【常见问题及解决方案】

问题	可能原因	解决方案
回收效率低	膜结合液 (MB) 使用量不当	按每 1 mg 凝胶或每 1 μl DNA 溶液加入 1 μl 膜结合液的比例 (1:1) 加入膜结合液
	溶胶不完全	尽量将胶切成小块，加入膜结合溶液后于 55~65°C 加热助溶，确保溶胶彻底
	离心力不足，DNA 未与硅胶膜充分结合	≥12,000 rpm 离心，如果离心机达不到该转速，可适当延长离心时间以确保胶溶液完全通过硅胶膜
	膜漂洗液 (MW) 未添加乙醇	第一次使用时按比例添加乙醇，并在试剂瓶上做标记
	洗脱溶液 pH 值不合适	使用试剂盒提供的洗脱缓冲液 (EB)；如用去离子水洗脱，需将 pH 值调至 7.0~8.5 范围
	洗脱溶液体积过小	使用 30 μl 以上洗脱溶液，加至硅胶膜的中央，静置 1 分钟，使膜完全浸润后再离心
回收产物测序结果不佳	用量太低	提高测序反应使用的 DNA 量；如果回收产物浓度过低，可通过乙醇沉淀浓缩产物
	用量过高，干扰测序结果	降低 DNA 用量，必要时用 EB 或灭菌双蒸水进行稀释
	TE 缓冲液干扰测序结果	使用无 DNA 酶污染的洗脱缓冲液 (EB) 或灭菌双蒸水溶解 DNA 作为测序模板
	紫外线下暴露时间过长	切胶动作要快，尽量减少紫外线照射的时间
酶切效果不佳	酶的质量低劣或使用方法不当	按照厂家说明书正确使用酶；设立阳性对照检测内切酶活性
	膜漂洗液 (MW) 去除不彻底，胶回收产物中残留有乙醇或盐	再次乙醇沉淀回收，并确保 DNA 溶液体积不高于酶切反应总体积的 10%
电泳上样时漂出上样孔	未添加上样缓冲液	与适量上样缓冲液混合后上样
	膜漂洗液 (MW) 去除不彻底，胶回收产物中残留有乙醇	确保洗涤步骤中洗涤缓冲液去除彻底，可增加离心时间或开盖放置一段时间使残留乙醇挥发
回收产物电泳条带不锐利	DNA 分子断裂	切胶、混合等操作尽量小心，特别是大片段，应避免 DNA 因机械损伤而断裂
	其他 DNA 分子污染	使用新配制的琼脂糖凝胶和电泳缓冲液，刀片应保持清洁，以避免 DNA 交叉污染
	DNA 分子降解	切下来的胶块如果不能及时回收，应于 4°C 保存，避免 DNA 降解
克隆效率低	离心吸附柱漂洗不彻底	再次乙醇沉淀回收
	回收过程中有外切酶污染，导致 DNA 片段末端序列缺失	用新鲜配制的胶和电泳缓冲液进行电泳；胶回收保证无菌操作
	感受态细胞的效率差	确保感受态制备和保存方法正确

## 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。