

## MolPure® Gel Extraction Kit

### 琼脂糖凝胶回收试剂盒

#### 产品简介

MolPure® Gel Extraction Kit 采用 MolPure® DNA Column G1 和高效的溶胶体系，适用于从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶中回收长度为 100 bp-40 kb 的高质量 DNA 片段。回收过程中不需要用到有毒的酚、氯仿等有机物抽提，也不需要用到耗时的异丙醇或乙醇沉淀。操作简便，溶胶时间短，加入溶胶液体积小，20 min 即可完成整个纯化过程。试剂盒内的 MolPure® DNA Column G1 可选择性吸附高达 8 μg 的 DNA 片段，不吸附酶、矿物油和其它杂质，得到的 DNA 纯度高，可直接用于后续酶切、连接、转化、测序和文库构建等实验。

#### 产品信息

货号	19101ES08 / 19101ES50 / 19101ES70
规格	5 T / 50 T / 200 T

#### 组分信息

组分编号	组分名称	19101ES08	19101ES50	19101ES70
19101-A	DNA 吸附柱 (MolPure® DNA Column G1)	5 个	50 个	200 个
19101-B	2 mL 收集管 (2 mL Collection Tube G1)	5 个	50 个	200 个
19101-C	缓冲液 AC (AC Buffer G1)	0.5 mL	5 mL	20 mL
19101-D	溶胶液 BD (BD Buffer G1)	2 mL	20 mL	80 mL
19101-E	漂洗液 W* (Wash Buffer*)	1.3 mL	13 mL	50 mL
19101-F	洗脱液 (Elution Buffer)	1 mL	10 mL	20 mL

#### 储存条件

室温避光保存，有效期 18 个月。

#### 注意事项

- 溶胶液 BD 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。且应注意避免强光直射。
- 回收纯化的 DNA 片段一般在 70 bp 到 40 kb 之间，过长、过短片段的回收效率迅速降低。
- 回收 DNA 的量和起始 DNA 的量、洗脱体积、DNA 片断大小有关。一般 1-15 μg，100 bp-5 kb 的 DNA 片段，回收率可高达 85%。
- 切胶回收时，紫外灯观察对 DNA 片段有损坏作用，应该尽可能使用能量低的长波紫外线，并且尽可能的缩短紫外线下处理的时间。
- 洗脱液不含有螯合剂 EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 大于 7.5，pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱，DNA 片段应该保存在-20°C。DNA 片段如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱 (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0)，但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。本产品仅作科研用途！

## 使用说明

### 使用前准备

1. 自备设备和试剂：台式离心机、振荡仪、水浴锅或金属浴，无水乙醇，离心管等。
2. 除特殊指明外，所有的离心步骤均在室温完成，使用可以达到 12,000 rpm 转速的传统台式离心机。
3. 首次使用前，在漂洗液 W\* (19101-E) 瓶中加入 4 倍体积的无水乙醇，充分混匀后使用，并做好标记。如果发现漂洗液 W\* 由于运输或保管不当造成容量严重不准，请用量筒定容后再加入 4 倍体积的无水乙醇。每次使用后将瓶盖盖紧，以保持漂洗液 W\* 中的乙醇含量。

### 操作方法

#### 一、样本预处理：

1. 称重含有目的片段的琼脂糖凝胶。
  2. 每 100 mg 1% 琼脂糖加入 100  $\mu$ L 溶胶液 BD。
- 【注】：对于高浓度的琼脂糖凝胶，溶胶液 BD 加入量需等比例增加。
3. 56°C 水浴 10 min。期间每 2-3 min 轻微颠倒混匀，直至胶块完全融化。
- 【注】：对于 400 bp 以下片段，建议加入 0.3 倍体积的异丙醇，可显著提高回收率。

#### 二、DNA 产物纯化：

1. 向 DNA 吸附柱 G1 中加入 100  $\mu$ L 缓冲液 AC，12,000 rpm 离心 1 min，弃掉废液。  
【注】：处理后的 DNA 吸附柱 G1 仅限当天使用。
2. 将样本混合液加入到 DNA 吸附柱 G1 中，室温放置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min，弃掉废液。  
【注】：1) 混合液每次最大加入体积 750  $\mu$ L，可分多次离心。  
2) 过滤下的混合液和收集管内残存的强碱性缓冲液 AC 混合后，混合液可能会从黄色变成橘红甚至紫色，为酚红 pH 指示剂碱性条件下的正常颜色变化，不影响回收效率。
3. 将 DNA 吸附柱 G1 放回收集管，加入 600  $\mu$ L 漂洗液 W\*，12,000 rpm 室温离心 30 s，弃废液。  
【注】：确保漂洗液 W\* 已添加无水乙醇。
4. 加入 600  $\mu$ L 漂洗液 W\*，12,000 rpm 室温离心 30 s，弃废液。
5. 将 DNA 吸附柱 G1 放回收集管，空柱 12,000 rpm 室温离心 2 min。以除去残留的漂洗液 W\*。
6. 将 DNA 吸附柱 G1 放入新的离心管（自备）中，在 DNA 吸附柱 G1 中央加入 50  $\mu$ L 洗脱液，室温放置 2 min。然后 12,000 rpm 离心 1 min。收集滤液，即为 DNA 溶液。  
【注】：可通过以下方式提高回收产量：①70°C 预热洗脱液；②将 DNA 滤液再次上柱，室温放置 2 min 后，洗脱。
7. DNA 溶液可置于 -20°C 长期保存。