



DNA Clean-up Kit

DNA产物纯化试剂盒

目录号：CW2301S (50 preps)
CW2301M (200 preps)

保存条件：室温 (15-30°C)

产品内容

| Component | CW2301S 50 preps | CW2301M 200 preps |
|--|---------------------|----------------------|
| Buffer PB | 30 ml | 120 ml |
| Buffer PS | 15 ml | 60 ml |
| Buffer PW (concentrate) | 6 ml | 25 ml |
| Buffer EB | 10 ml | 30 ml |
| Spin Columns DM with Collection Tubes | 50 | 200 |

产品简介

本试剂盒采用新型硅基质膜技术和试剂配方，通过快速简单的结合-洗涤-洗脱三步即可从PCR产物或酶反应液（酶切，连接，探针标记等）中纯化回收100 bp-10 kb的DNA片段，每个吸附柱最高可吸附10 μg的DNA，同时最大限度的去除引物、寡核苷酸、酶等杂质。纯化回收的DNA纯度及浓度高，完整性好，回收率高，可直接用于测序、连接和转化、标记、体外转录等分子生物学实验。

自备试剂：无水乙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. 所有组分可在干燥、室温（15-30℃）环境稳定保存1年，更长时间保存可置于2- 8℃。当溶液低温保存时,使用前需在室温中放置一段时间，恢复至室温后使用。
2. 本试剂盒可无选择性回收溶液中所有DNA片段，如需选择性回收特定片段，同时去除其他不同大小片段，请选择我公司的胶回收试剂盒（CW2302，CW0519）。
3. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在Buffer PW中加入无水乙醇。
4. 使用前请检查Buffer PB是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀现象，可在37℃水浴几分钟，即可恢复澄清。
5. 回收效率与初始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。
6. 所有离心步骤均可室温下进行。

操作步骤

1. 估计DNA反应液的体积，加入5倍体积的 Buffer PB，充分混匀（无需去除石蜡油或矿物油）。
注意：1) 如DNA反应体系为50 μ l(不包括石蜡油体积)，则加入250 μ l Buffer PB。
2)在加入Buffer PB后检测溶液的pH值，若pH值 > 7.5，可向其中加入10-30 μ l的3 M醋酸钠 (pH5.0)，从而将pH值调到5-7。
2. 柱平衡：向已装入收集管中的吸附柱（Spin Columns DM）中加入**200 μ l Buffer PS**，13,000 rpm（~16,200 \times g）离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
3. 将步骤1中所得溶液加入到已装入收集管的吸附柱中，室温放置1分钟，13,000 rpm离心30-60 s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
注意：吸附柱容积为750 μ l，若样品体积大于750 μ l可分批加入。
4. 向吸附柱中加入**500 μ l Buffer PW**（使用前请先检查是否已加入无水乙醇）13,000 rpm离心30-60 s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
注意：如果纯化的DNA用于盐敏感实验（例如平末端连接实验或直接测序），建议加入Buffer PW后静置2-5分钟再离心。
5. 13,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR等）。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，建议将吸附柱开盖，置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的乙醇。
6. 将吸附柱放到一个新离心管（自备）中，向吸附膜中间位置悬空滴加**30-50 μ l Buffer EB**，室温放置1分钟。13,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液。-20 $^{\circ}$ C保存DNA。
注意：1) 洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液，应保证其pH值在7.0-8.5之间（可以用NaOH将水的pH值调到此范围）。
2) 为了提高DNA的回收量，可将离心得到的溶液重新加到吸附柱中，室温放置2分钟，13,000 rpm离心1分钟。
3) 洗脱体积不应小于30 μ l，体积过少会影响回收效率。
4) 回收 > 10 kb的DNA片段时，Buffer EB应在50 $^{\circ}$ C水浴中预热，适当延长吸附和洗脱时间，可增加回收效率。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途