



DNA Clean-up Kit

DNA产物纯化试剂盒

Cat.No. CW2301

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 μ g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。

保存条件

室温（15-30℃）

产品内容

Component	CW2301M 200 preps
Buffer PB	120 mL
Buffer PS	60 mL
Buffer PW (concentrate)	25 mL
Buffer EB	30 mL
Spin Columns DM with Collection Tubes	200

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。

操作流程

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（ $\sim 16,200\times g$ ）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℃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℃水浴中预热，适当延长吸附和洗脱时间，可增加回收效率。