

<For Research Use Only>

Wakofor Genetic Research
PCR Purification Kit Wako**[Introduction]**

PCR Purification Kit *Wako* is used for removal of primers, primer dimers, dNTPs, enzymes such as DNA polymerase and restriction enzyme from reaction buffer of various molecular biology experiments.

[Features]

- 1) Purification of the DNA fragment in about 10 minutes
- 2) Purification of 80 bp–30 kbp DNA
- 3) Removal of primers, primer dimers, dNTPs, and enzymes

[Kit contents] (30 purifications)

	Contents
(1) Binding Buffer	5 mL × 1 vial
(2) Washing Buffer ^{*1}	12 mL × 1 vial
(3) Elution Buffer	2 mL × 1 tube
(4) Spin Column	30 columns × 1 pack
(5) 2 mL Collection Tube	30 tubes × 1 pack
(6) 1.5 mL Collection Tube ^{*2}	30 tubes × 1 pack

※ 1. Add 18 mL of 99.5% ethanol into the vial of Washing Buffer before use of this kit.

※ 2. Thirty tubes of 1.5 mL Collection Tube are included in this kit for the DNA elution step of [Procedure] (1) Steps 8. ~ 9. In the case of [Procedure] (2), you have to prepare 30 new tubes for use of Step 1.

[Additional materials required]

Equipments :

- 1) Microcentrifugation tube
- 2) PCR centrifugation tube
- 3) Micropipette
- 4) Pipette tips
- 5) UV Gel illuminator

Reagents :

- 1) 99.5% Ethanol

[Precautions]

1. Equipments

PCR tube, microcentrifugation tube, and pipette tips should be sterilized by autoclaving. There is no problem with using commercially available DNase and RNase free products. We recommend that you use gloves and a mask to avoid RNase contamination.

2. Reagents

Additional reagents excluding the kit are sterilized by autoclaving or filtration.

※ 1. Add 18 mL of 99.5% ethanol into the vial of Washing Buffer before use of this kit.

[Procedures](1) DNA purification from PCR solution ($\leq 50 \mu\text{L}$)

1. Add 130 μL of Binding Buffer into the PCR microcentrifugation tube including DNA solution after PCR and mix by pipetting gently.
2. Set Spin Column in a 2 mL Collection Tube.
3. Add the total solution of step 1 into the Spin Column.
4. Incubate for 1 minute at room temperature and centrifuge at 10,000 rpm for 30 seconds at room temperature.
5. Add 700 μL of Washing Buffer^{*1} into the Spin Column and centrifuge at 10,000 rpm for 30 seconds at room temperature.
6. Remove Spin Column^{*3} from the 2 mL Collection Tube and dispose the solution in the 2 mL Collection Tube.
7. Reset the Spin Column in the 2 mL Collection Tube and centrifuge at 12,000 ~ 14,000 rpm for 3 minutes at room temperature.^{*4}
8. Transfer the Spin Column into a 1.5 mL Collection Tube and add 20 μL of Elution Buffer.^{*5}
9. Incubate for 3 minutes^{*5} at room temperature and centrifuge at 10,000 rpm for 1 minute at room temperature.
10. Use the purified DNA for the following applications.
nuclease digestion, southern blot analysis, labeling, cloning, sequencing, *in vitro* transcription, etc.

※ 3. Keep the Spin Column in this step.

※ 4. This procedure is to remove the remaining alcohol solution from the Spin Column.

※ 5. In the case of low DNA recovery, we recommend increasing Elution Buffer to 40 ~ 80 μL , or to extending incubation time from 3 minutes to 10 minutes.

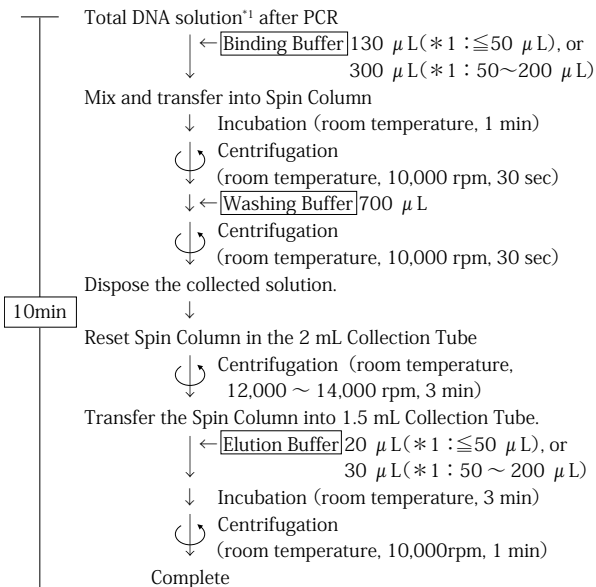
(2) DNA purification from PCR solution (50 ~ 200 μL)

1. Transfer DNA solution after PCR into a new 1.5 mL microcentrifugation tube.
2. Add 300 μL of Binding Buffer and mix by pipetting gently.
3. Set the Spin Column in a 2 mL Collection Tube.
4. Add the total solution of step 1 into the Spin Column.
5. Incubate for 1 minute at room temperature and centrifuge at 10,000 rpm for 30 seconds at room temperature.
6. Add 700 μL of Washing Buffer^{*1} and centrifuge at 10,000 rpm for 30 seconds at room temperature.
7. Remove the Spin Column^{*6} from the 2 mL Collection Tube and dispose the solution in the 2 mL Collection Tube.
8. Reset the Spin Column in the 2 mL Collection Tube and centrifuge at 12,000 ~ 14,000 rpm for 3 minutes at room temperature.^{*7}
9. Transfer the Spin Column into a 1.5 mL Collection Tube and add 30 μL of Elution Buffer into the Spin Column.^{*8}
10. Incubate for 3 minutes^{*8} at room temperature and centrifuge at 10,000 rpm for 1 minute at room temperature.
11. Use the purified DNA for following applications.
nuclease digestion, southern blot analysis, labeling, cloning, sequencing, *in vitro* transcription, etc.

※ 6. Please keep the Spin Column in this step.

※ 7. This procedure is to remove the remaining alcohol solution from the Spin Column.

※ 8. In the case of low DNA recovery, we recommend increasing the Elution Buffer to 60 ~ 100 μL , or extending the incubation time from 3 minutes to 10 minutes.



[Storage]

Store kit at less than 25°C in the dark.

[Package]

1Kit (30 Purifications)

[Related Products]

311-02501	ISOGEN	100mL
312-03234	Gene Taq NT	50 units
318-03231		250 units
310-80253	HOTGoldstar™ DNA Polymerase	50 units
314-80251		500 units
319-06583	DAp GoldStar™ DNA Polymerase	20 units
313-06581		250 units
574-98041	TOPOTAQ DNA Polymerase	100 units
587-81501	TOPOTAQ HiFi DNA Polymerase	100 units
314-90261	6 × Loading Buffer Triple Dye	1mL × 3
316-90101	Distilled Water, Deionized, Sterile	100mL
315-90051	EtBr Solution	10mL (10mg/mL)
313-90035	50 × TAE	500mL
312-01193	Agarose S	100g

Wako Pure Chemical Industries, Ltd.

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
 Telephone : +81-6-6203-3741
 Facsimile : +81-6-6201-5964
<http://www.wako-chem.co.jp>

Wako Chemicals USA, Inc.

1600 Bellwood Road
 Richmond, VA 23237
 U.S.A.
 Telephone : +1-804-271-7677
 Facsimile : +1-804-271-7791
<http://www.wakousa.com>

Wako Chemicals GmbH

Fuggerstrasse 12
 D-41468 Neuss
 Germany
 Telephone : +49-2131-311-0
 Facsimile : +49-2131-311100
<http://www.wako-chemicals.de>

遺伝子研究用 PCR 精製キットワコー

[はじめに]

本品は、PCR による DNA 増幅後に、反応溶液に含まれるプライマー、プライマーダイマー、dNTP、酵素類や制限酵素処理後の酵素類の除去に最適です。

[特長]

- 1) PCR 増幅産物を 10 分間で精製可能
- 2) 80bp~30kbp の DNA を精製可能
- 3) 酵素反応後の塩、界面活性剤、ヌクレオチド、ミネラルオイル、プライマー、酵素の除去が可能

[キット内容] (30 回用)

	容量
(1) Binding Buffer	5 mL × 1 本
(2) Washing Buffer *1	12 mL × 1 本
(3) Elution Buffer	2 mL × 1 本
(4) Spin Column	30 本 × 1 パック
(5) 2 mL Collection Tube	30 本 × 1 パック
(6) 1.5 mL Collection Tube *2	30 本 × 1 パック

※ 1. 使用直前に 99.5 %エタノール (コード No. 054-07225, 500 mL, 分子生物学用) を 18 mL 添加して使用してください。

※ 2. 1.5 mL Collection Tube は、DNA 溶出工程 (操作 8~9) における使用回数 (30 回) 分がキットに含まれています。PCR 反応溶液の容量が 50 ~ 200 μL の場合は、別途 1.5 mL マイクロチューブをご用意ください。

[キット以外に準備する物]

器具:

- 1) マイクロチューブ
- 2) PCR マイクロチューブ
- 3) マイクロピペット
- 4) ピペットチップ
- 5) UV ゲルイルミネーター

試薬:

- 1) 99.5 %エタノール

[操作前の注意点]

1. 器具類

マイクロチューブ、ピペットチップ、PCR マイクロチューブなどはオートクレーブ処理または市販の DNase および RNase フリーであるものを使用してください。また、実験中はプラスチック手袋およびマスクを着用し、DNase および RNase の混入には細心の注意を払ってください。

2. 試薬類

調製が必要な試薬はオートクレーブ処理を行ってください。オートクレーブができない試薬は滅菌済みの器具類、水を用いて調製し、フィルターろ

過による滅菌を行ってください。

- ※ 1. 使用直前に 99.5 %エタノール (コード No. 054-07225, 500 mL, 分子生物学用) を 18 mL 添加して使用してください。

〔操作〕

■ PCR 反応溶液 (≦ 50 μL) からの DNA 精製

1. PCR 反応後の DNA 溶液を含む PCR マイクロチューブに、Binding Buffer 130 μL を添加し、ピペティングで緩やかに混合する。
2. Spin Column を 2 mL Collection Tube にセットする。
3. 1. で混合した溶液全量を、2. の Spin Column に添加する。
4. 室温で 1 分間静置した後、室温、10,000 rpm で 30 秒間遠心分離する。
5. Washing Buffer ^{※1} 700 μL を Spin Column に添加した後、室温、10,000 rpm で 30 秒間遠心分離する。
6. Spin Column ^{※3} を取り外し、2 mL Collection Tube に回収された溶液を捨てる。
7. 取り外した Spin Column を再度 2 mL Collection Tube にセットし、室温、12,000 ~ 14,000 rpm で 3 分間遠心分離する ^{※4}。
8. Spin Column を 1.5 mL Collection Tube に移し、Elution Buffer 20 μL を添加する ^{※5}。
9. 室温で 3 分間静置した後、室温、10,000 rpm で 1 分間遠心分離する ^{※5}。
10. 溶出された DNA 溶液は制限酵素処理、サザンブロット、ラベリング、クローニング、シーケンシング、*in vitro* 転写反応などに使用できます。

- ※ 3. この時点の Spin Column には DNA 断片が吸着していますので、誤って廃棄しないようご注意ください。

- ※ 4. カラム内に残留しているアルコールを完全に除去する実験工程です。

- ※ 5. DNA の回収量が不十分な場合には、Elution Buffer の添加量を 40 ~ 80 μL に増やす、もしくは Elution Buffer を添加した後の静置時間を 10 分間に延長することにより、DNA 回収量が改善されます。

■ PCR 反応溶液 (50 ~ 200 μL) からの DNA 精製

1. PCR 反応後の DNA 溶液 全量を新しい 1.5 mL マイクロチューブに移し、Binding Buffer 300 μL を添加し、ピペティングで緩やかに混合する。
2. Spin Column を 2 mL Collection Tube にセットする。
3. 1. で混合した溶液全量を、2. の Spin Column に添加する。
4. 室温で 1 分間静置した後、室温、10,000 rpm で 30 秒間遠心分離する。
5. Washing Buffer ^{※1} 700 μL を Spin Column に添加した後、室温、10,000 rpm で 30 秒間遠心分離する。
6. Spin Column ^{※6} を取り外し、2 mL Collection Tube に回収された溶液を捨てる。
7. 取り外した Spin Column を再度 2 mL Collection Tube にセットし、室温、12,000 ~ 14,000 rpm で 3 分間遠心分離する ^{※7}。
8. Spin Column を 1.5 mL Collection Tube に移し、Elution Buffer 30 μL を添加する ^{※8}。
9. 室温で 3 分間静置した後、室温、10,000 rpm で 1 分間遠心分離する ^{※8}。
10. 溶出された DNA 溶液は制限酵素処理、サザンブロット、ラベリング、クローニング、シーケンシング、*in vitro* 転写反応などに使用できます。

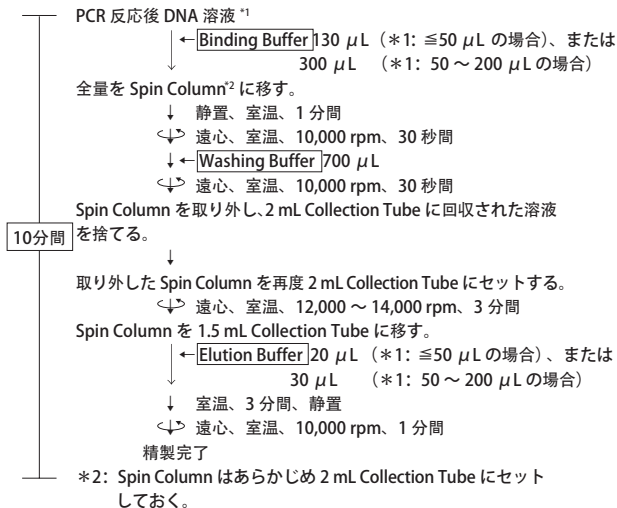
- ※ 6. この時点の Spin Column には DNA 断片が吸着していますので、誤って廃棄しないようご注意ください。

- ※ 7. カラム内に残留しているアルコールを完全に除去する実験工程です。

- ※ 8. DNA の回収量が不十分な場合には、Elution Buffer の添加量を 60 ~ 100 μL に増やす、もしくは Elution Buffer を添加した後の静置

時間を 10 分間に延長することにより、DNA 回収量が改善されます。

〔実験フローチャート〕



〔保存〕

本キットは 25°C 以下・遮光で保存してください。

〔包装〕

1 キット (30 回用)

〔関連製品〕

311-02501	ISOGEN	100mL
312-03234	Gene Taq NT	50 units
318-03231		250 units
310-80253	HOTGoldstar™ DNA Polymerase	50 units
314-80251		500 units
319-06583	DAP GoldStar™ DNA Polymerase	20 units
313-06581		250 units
574-98041	TOPOTAQ DNA Polymerase	100 units
587-81501	TOPOTAQ HiFi DNA Polymerase	100 units
314-90261	6 × Loading Buffer Triple Dye	1mL × 3
316-90101	Distilled Water, Deionized, Sterile	100mL
315-90051	EtBr Solution	10mL (10mg/mL)
313-90035	50 × TAE	500mL
312-01193	Agarose S	100g

boppard 宝柏・中国



和光純薬工業株式会社



北京 Tel: 010 85804838
上海 Tel: 021 62884751
广州 Tel: 020 87326381
香港 Tel: 852 27999019
Email: info@boppard.cn