

Code No. 9761

研究用

TaKaRa

TaKaRa MiniBEST DNA
Fragment Purification Kit Ver.4.0

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 保存与运输	1
● 使用前的准备事项	1
● 操作方法	1
● 使用例	2
● 注意事项	3
● Q&A	3

● 制品说明

本试剂盒是从 PCR 反应液或其它各种酶促反应液中纯化 DNA 片段的试剂盒，适用于从 PCR 反应液或其它各种酶促反应液中除去酶蛋白、DNA 引物（小于 65 mers 的引物都可以除去）、dNTP 等。试剂盒采用了 DNA 制备膜技术，具有高效、快速、方便之特点，全套操作只需 15 分钟便可完成。使用本试剂盒每次可纯化多至 20 μg 的 DNA 片段（50 bp~20 kb），回收率高达 70~95%，20~50 kb 的 DNA 片段回收率略低。回收得到的 DNA 纯度高（不含酶蛋白、DNA 引物、dNTP 等），可直接用于各种分子生物学实验。

● 制品内容 (50 次量)

本试剂盒分试剂 Set 与 Column Set 两部分。

■ 试剂 Set

Buffer DC*1	28 ml
Buffer WB*2	24 ml
Elution Buffer	2 ml \times 2

*1 含有强变性剂，应避免与皮肤、衣物等接触。若不小心接触到眼睛或皮肤时，请立即到医院进行处理。

*2 首次使用前，向 Buffer WB 中添加 56 ml 的 100%乙醇。

■ Column Set

Spin Column	50 支
Collection tubes	50 支

【试剂盒之外所需准备试剂】

- ◆ 无水乙醇
- ◆ 灭菌水或 Tris-HCl (pH8.0)

● 保存与运输

1. 本试剂盒可以在室温下（15~25 $^{\circ}\text{C}$ ）保存。
2. 本试剂盒于室温下（15~25 $^{\circ}\text{C}$ ）运输。

● 使用前的准备事项

1. 首次使用前，向 Buffer WB 中添加 56 ml 的 100%乙醇。
2. 试剂中含有变性剂，操作时应佩戴手套等防护用具。

● 操作方法

操作流程见图 1，全套操作约需 15 分钟，详细说明如下。

1. 向 PCR 反应液（或其它酶促反应液）中加入 3 倍量的 Buffer DC（如果需加入的 Buffer DC 量不足 100 μl 时应加入 100 μl ），然后均匀混合。
2. 将试剂盒中的 Spin Column 安置于 Collection Tube 上。
3. 将上述操作 1. 的溶液转移至 Spin Column 中，室温 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃滤液。
注）如将滤液再加入 Spin Column 中离心一次，可以提高 DNA 的回收率。
4. 将 700 μl 的 Buffer WB 加入 Spin Column 中，室温 12,000 rpm 离心 30 秒钟，弃滤液。
注）请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的 100%乙醇。

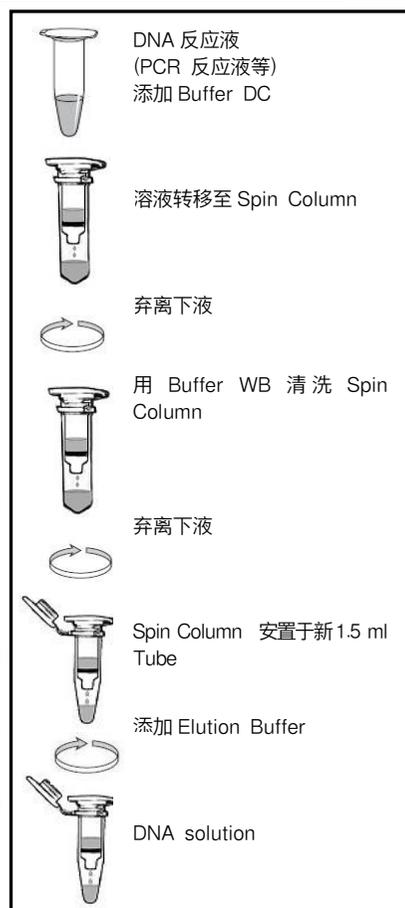


图 1. 操作流程简图

5. 重复操作步骤 4。
6. 将 Spin Column 安置于 Collection Tube 上，室温 12,000 rpm 离心 1 分钟。
7. 将 Spin Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管上，在 Spin Column 膜的中央处加入 25~30 μ l 的灭菌水或 Elution Buffer，室温静置 1 分钟。
注) 将灭菌水或 Elution Buffer 加热至 60 $^{\circ}$ C 使用时有利于提高洗脱效率。
8. 室温 12,000 rpm 离心 1 分钟洗脱 DNA。

如果实验室备有适合于 Spin Column 接口的负压装置，可从上述操作步骤 1 以后进行以下操作。

2. 将试剂盒中的 Spin Column 插到负压装置的插口上，将上述操作步骤 1 的溶液转移到 Spin Column 中，开启调节负压装置，缓慢吸走 Spin Column 中的溶液（流速控制在 1 滴/秒）。
3. 将负压调至最大，向 Spin Column 中加入 700 μ l 的 Buffer WB，吸尽 Spin Column 中溶液。
注) 请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的 100%乙醇。
4. 重复操作步骤 3，然后从负压装置上取下 Spin Column，将其安置于 Collection Tube 上。
5. 室温 12,000 rpm 离心 1 分钟。
6. 将 Spin Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管上，在 Spin Column 膜的中央处加入 25~30 μ l 的灭菌水或 Elution Buffer，室温静置 1 分钟。
注) 将灭菌水或 Elution Buffer 加热至 60 $^{\circ}$ C 使用时有利于提高洗脱效率。
7. 室温 12,000 rpm 离心 1 分钟洗脱 DNA。

● 使用例

1. 经 PCR 反应扩增 500 bp 的 DNA 片段，使用本试剂盒纯化了此 DNA 片段，其琼脂糖凝胶电泳结果见图 2，回收率高达 90%。

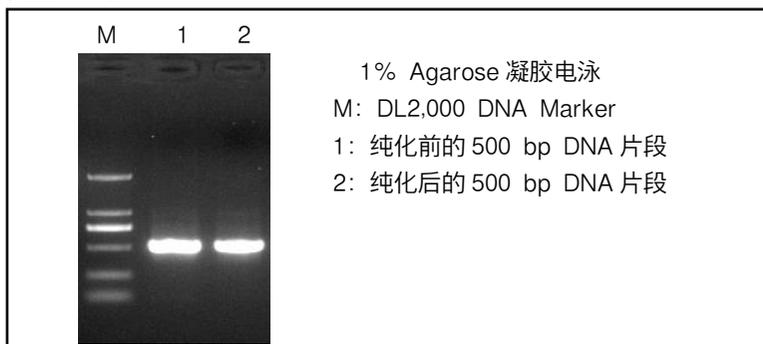


图 2. DNA 片段纯化电泳图

2. 经 PCR 反应扩增 18 kb 的 DNA 片段，使用本试剂盒纯化了此 DNA 片段，其琼脂糖凝胶电泳结果见图 3，回收率高达 70%。



图 3. DNA 片段纯化电泳图

● 注意事项

1. 纯化的 DNA 用于 DNA 序列分析时，最好使用灭菌水洗脱 DNA。
2. DNA 需长期保存时，建议在 Elution Buffer 中保存。

● Q&A

Q1. 纯化 DNA 时，一般使用多少洗脱液洗脱？

A1. 可以根据所需浓度计算使用洗脱液的体积，一般情况下，洗脱液体积大于 30 μ l 即可洗脱 Column 中 90% 以上的 DNA，所以洗脱液体积最好大于 30 μ l。当对 DNA 浓度要求较高时，也可以减少洗脱液体积至 20 μ l，但回收率会略有下降，应注意使用预热的洗脱液洗脱，并在洗脱离心之前静置 1 分钟以上，以增加洗脱效率。

Q2. 本试剂盒一次可以回收的 DNA 量的范围是多少？

A2. 本试剂盒中 Column 一次回收的最大吸附量可达 20 μ g 以上，最小 DNA 起始量也可低至 500 ng，所以使用前请对 DNA 样品的总量进行估算。

Q3. DNA 的收量较低，为什么？

A3. 一般情况下，DNA 的回收率可以达到 70–95%。DNA 收量较低时，可以从以下几个方面考虑：

- ① 使用前确认 Buffer WB 中是否加入了指定体积的乙醇。
- ② 洗脱前的空离步骤不可省略，此步骤可以除去 Column 上残留的洗液中的乙醇，否则影响洗脱效率。
- ③ 洗脱时将灭菌水或 Elution Buffer 加热至 60°C 后使用有利于提高洗脱效率。

Q4. 纯化得到的 DNA 反应性能不佳（酶切、连接），为什么？

- A4. ① 洗脱液中残留部分盐离子，加入 Buffer WB 后室温静置 5 分钟，有助于彻底清洗掉 Column 上残留的盐离子。
- ② 洗脱液中残留乙醇，在向 Column 中加入洗脱液之前，将 Column 在室温下静置 2 分钟有助于使 Column 上残留的乙醇彻底挥发，然后再加入洗脱液洗脱。
- ③ 进行 DNA 洗脱时用灭菌水洗脱。

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 TAKARA BIO INC. 书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品，或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站 www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686

4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <http://www.takara.com.cn>

v201702Da