

UE PCR 清洁大量试剂盒

本试剂盒适合从 PCR、酶促反应、测序反应的反应液中提取多至 20 µg DNA (100 bp-15 kb), 回收率为 80%以上, 尤其适用于大量体积 (>50 µl) 或者核酸质量>5µg PCR 产物回收。纯化的 DNA 不含引物、酶蛋白及单核苷酸。

一、试剂盒组成、贮存、稳定性

Cat.No.	UE-MX-PCR-10	UE-MX-PCR-50	UE-MX-PCR-250	UE-MX-PCR-500
Kit size	10 preps	50 preps	250 preps	500 preps
Miniprep column B10	10	50	250	500
2 ml Collection tube	10	50	250	500
Buffer PCR-A	4 ml	20 ml	100 ml	200 ml
Buffer W2 concentrate	5 ml	24 ml	2×72 ml	2×120 ml
Eluent	1 ml	5 ml	25 ml	50 ml
Protocol manual	1	1	1	1

Buffer PCR-A: DNA 结合溶液, 室温密闭贮存。

Buffer W2 concentrate: 去盐液。使用前, 按试剂瓶上的指定体积加入无水乙醇(可用 100%乙醇或 95%无水乙醇), 混合均匀, 室温密闭贮存。

Eluent: 洗脱液, 室温密闭贮存。

三、注意事项

1. 本试剂盒适用于无选择性的回收所有核酸片段, 如果选择性的回收特定片段, 请选择 UE DNA 凝胶回收试剂盒系列。
2. 如果回收前核酸片段含量 1-5 µg, UE-PCR 和 UE-MX-PCR 都适用, 洗脱液体积添加 30-50 µl; 回收前核酸片段含量 5-20 µg, 请选择 UE-MX-PCR, 洗脱液体积添加 50-100 µl。
3. 回收率与初始核酸量和洗脱体积有关, 初始量越少、洗脱体积越少(洗脱体积不低于 20 µl), 回收率越低。
4. Buffer PCR-A 含刺激性化合物, 操作时要戴乳胶手套和眼镜, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服, 谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛时, 要立即用大量清水或生理盐水冲洗, 必要时寻求医疗咨询。
5. DNA 分子呈酸性, 建议在 2.5 mM Tris-HCl, pH7.0-8.5 洗脱液中保存。
6. 提高回收量建议:
 - 1) 混合液转移至吸附柱 B10 可以放置 2-5 min;
 - 2) 混合液分 2-3 次重复离心;
 - 3) 加热洗脱液温度;
 - 4) 洗脱液二次重复洗脱。

四、实验准备

1. 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。
2. 第一次使用前, Buffer W2 concentrate 按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
3. 使用前, 检查 Buffer PCR-A 是否出现沉淀, 若出现沉淀, 应于 65 °C 温浴加热至沉淀完全溶解并冷却至室温后再使用。
4. 将 Eluent 或去离子水加热至 65°C, 有利于提高洗脱效率。

四、操作步骤

1. 在 PCR、酶切、酶标、或测序反应液中, 加 3 个体积的 Buffer PCR-A (若 Buffer PCR-A 不足 100 µl, 加至 100 µl) 充分混匀。
2. 将上一步混匀液体转移至吸附柱 B10 (吸附柱放置于收集管中), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液。

3. 将吸附柱 B10 放回收集管中, 加 700 µl Buffer W2, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液; 以同样的方法再用 700 µl Buffer W2 洗涤一次, 弃滤液。
4. 将吸附柱 B10 放入收集管中, 12,000 rpm 离心 1 min。
5. 取出吸附柱 B10 置于一个洁净的离心管 (自备), 向吸附柱膜中央加入 50-100 µl Eluent 或者去离子水, 室温静置 1 min, 12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 DNA。

*将 Eluent 或去离子水加热至 65°C 将提高洗脱效率。

*如果需要较大 DNA 浓度, 可以适当减少洗脱液的体积, 2 次重复洗脱。

五、流程图

加样品和3倍体积Buffer PCR-A

如果需要的量少于100 µl

加入100 µl Buffer PCR-A

加700 µl Buffer W2

加700 µl Buffer W2

结合
洗涤

加50-100 µl Eluent或去离子水

洗脱

