

UE PCR 清洁试剂盒

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 8 µg DNA (大于 75 bp),回收率为 70-90%。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-PCR-10	UE-PCR-50	UE-PCR-250	UE-PCR-500
Kit size	10 preps	50 preps	250 preps	500 preps
Miniprep column C15	10	50	250	500
2 ml Microfuge tube	10	50	250	500
1.5 ml Microfuge tube	10	50	250	---
Buffer A	6 ml	28 ml	145 ml	280 ml
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 A: 制备管活化处理液, 室温密闭贮存。

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。

二、注意事项

1. 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。
2. DNA 分子呈酸性, 建议在 2.5 mM Tris-HCl, pH7.0-8.5 洗脱液中保存。
3. 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。
4. 回收率低建议:
 - 1) 步骤 2 之后混合液转移至吸附管可以放置 2-5 min;
 - 2) 加热洗脱液温度;
 - 3) 洗脱液二次重复洗脱。

三、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. 制备管活化处理: 向置于 2 ml 离心管中的吸附柱里添加 500 µl Buffer A, 12,000×g 离心 1min, 弃除滤液。
*制备管活化处理过程能够改善吸附柱的均一性和稳定性, 减少批间差异, 消除高温/潮湿或者环境其它不良因素对吸附柱造成的影响。
2. 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)。

步骤 3-5 可以选择离心法或者负压法

A. 离心法

- 3A. 步骤 2 中的混匀液转移到置于 2 ml 离心管 (试剂盒内提供) 的制备管中, 12,000×g 离心 1 min, 弃滤液。
- 4A. 将制备管置回 2 ml 离心管, 加 700 µl Buffer W2, 12,000×g 离心

1 min, 弃滤液; 以同样的方法再用 700 µl Buffer W2 洗涤一次。

*确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上的指定体积加入无水乙醇。

5A. 将制备管置回 2 ml 离心管中, 12,000×g 离心 1 min。

B. 负压法

- 3B. 正确连接负压装置, 将制备管插到负压装置的插口上; 将步骤 2 中的混匀液转移到制备管中, 开启负压装置, 缓慢吸走管中溶液。
- 4B. 加 700 µl Buffer W2, 吸尽管中溶液。以同样的方法再用 700 µl Buffer W2 洗涤一次。

*确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上的指定体积加入无水乙醇。

*两次使用 Buffer W2 冲洗能确保盐份被完全清除, 消除对酶切反应的影响。

5B. 将制备管置于 2 ml 离心管 (试剂盒内提供) 中, 12,000×g 离心 1 min。

6. 将制备管置于洁净的 1.5 ml 离心管中 (500T 规格自备), 在制备管膜中央加 25-30 µl Eluent 或去离子水, 室温静置 1 min, 12,000 ×g 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。

五、流程图

