

UE PCR 清洁超量试剂盒

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 1 mg DNA (100 bp-15 kb), 回收率为 80%以上, 尤其适用于超大量体积 (>5 ml) 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

货号	UE-MG-PCR-5	UE-MG-PCR-10
Kit size	5 preps	10 preps
Column C05	5	10
50 ml Centrifuge tubes	5	10
Buffer PCR-A	175 ml	2×175 ml
Buffer W2 concentrate	39 ml	2×39 ml
Eluent	10 ml	20 ml
Protocol manual	1	1

二、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. 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。
3. DNA 分子呈酸性, 建议在 2.5 mM Tris-HCl, pH7.0-8.5 洗脱液中保存。

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. 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, 小片段产物 (<1kb) 可以再加 1 个体积异丙醇。

步骤 2-3 可以选择负压或者离心法

A 负压法

- 2A. 正确连接负压装置, 将大量制备管插到负压装置的插口上。将步骤 1 中的混合液分 2 次转移到大量制备管中, 开启并调节负压至 -25-30 英寸汞柱, 缓慢吸尽管中溶液。
- 3A. 保持负压, 加 12 ml Buffer W2, 吸尽管中溶液。重复此操作一次。

B 离心法

- 2B. 大量制备管放入 50 ml 离心管中, 将步骤 1 中的混合液分多次转移至制备管中, 每次 $\geq 4,000 \times g$ 离心 1-2 min。
*混合液加入大量制备柱体积尽量不要超过刻度线 (15ml)。
- 3B. 弃滤液, 加 12 ml Buffer W2, $\geq 4,000 \times g$ 离心 1-2 min。重复此步骤 1 次。
4. 将大量制备管置回 50 ml 离心管中, $\geq 4,000 \times g$ 离心 5 min。

5. 将大量制备管置于另一洁净的 50 ml 离心管中 (自备), 在制备管的膜中央上加 1-1.5 ml Eluent, 室温静置 2-5 min, $\geq 4,000 \times g$ 离心 5 min 洗脱 DNA, -20°C 保存。

*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。

*首次洗脱 DNA 回收率 65-80%, 建议二次重复洗脱。

五、流程图

加样品和3倍体积Buffer PCR-A
小片段产物再加1个体积异丙醇

加12 ml Buffer W2 $>4000g/2\text{min}$

加12 ml Buffer W2 $>4000g/2\text{min}$

空转 $>4000g/5\text{min}$

加1-1.5 ml Eluent或去离子水

