

UE-96PCR清洁试剂盒

本试剂盒适合从 PCR、酶促反应、测序反应的 96 孔板中每孔反应液中提取多至 8 μg DNA (大于 75bp), 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-96-PCR-4	UE-96-PCR-24
Kit size	4 $\times$ 96 preps	24 $\times$ 96 preps
96-well PCR plate	4	24
96-well 1.6 ml growblock	4	24
96-well V-bottom sample plate	4	24
Buffer PCR-A	2 $\times$ 80 ml	2 $\times$ 480 ml
Buffer W2 concentrate	2 $\times$ 72 ml	6 $\times$ 150 ml
Eluent	25 ml	110 ml
Protocol manual	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, 按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇 (可用 100%乙醇或 95%乙醇), 混合均匀, 室温密闭贮存。

Eluent: 2.5 mM Tris-HCl, pH 8.5。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, pH8.5 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。
2. 第一次使用前, 在 Buffer W2 concentrate 中加入指定的无水乙醇。
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. 将洗脱液或去离子水加热至 65°C, 有利于提高洗脱效率。

四、操作步骤

用户可以选择负压法或离心法。

A. 负压法

- 1A. 正确连接负压装置, 将 96 孔 DNA 制备板 (试剂盒内提供) 置于负压装置上; 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 μ l); 混合均匀后转移到 96 孔 DNA 制备板中, 开启并调节负压至-25-30 英寸汞柱, 缓慢吸掉板中溶液。

2A. 加 300 μ l Buffer W2, 吸尽管中溶液。以同样的方法再用 300 μ l 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。

* 两次用 Buffer W2 冲洗能确保盐分被完全清除, 消除对酶切反应的影响。

3A. 保持负压将 96 孔 DNA 制备板抽吸 10 min。

4A. 导流管朝下将 96 孔 DNA 制备板于长纤维性纸巾上用力拍击 6 次。

5A. 将 96 孔 DNA 制备板置于洁净的 96 孔 V 型底板 (试剂盒内提供) 上, 在膜正中央加 25-30 μ l 去离子水或 Eluent, 室温静置 1 min。≥3,000×g 离心 5 min 洗脱 DNA。

B. 离心法

1B. 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 μ l, 加至 100 μ l); 混匀后, 转移到 96 孔 DNA 制备板中, 将 96 孔 DNA 制备板 (试剂盒内提供) 置于 96 孔 1.6 ml 深孔板 (试剂盒内提供) 中, 1,000×g 离心 1 min, 弃滤液。

2B. 在 96 孔 DNA 制备板中, 加 300 μ l Buffer W2, 1,000×g 离心 1 min, 弃滤液。以同样的方法用 300 μ l 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。

* 两次用 Buffer W2 冲洗能确保盐分被完全清除, 消除对酶切反应的影响。

3B. 将 96 孔 DNA 制备板置回 96 孔 1.6 ml 深孔板中, ≥3,000×g 离心 10 min。

4B. 将 96 孔 DNA 制备板置于洁净的 96 孔 V 型底板 (试剂盒内提供) 中, 在制备板每孔膜中央加 25-30 μ l Eluent 或去离子水, 室温静置 1 min。≥3,000×g 离心 5 min 洗脱 DNA。

* 将 Eluent 或去离子水加热至 65℃将提高洗脱效率。

五、流程图

