

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 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-PCR-10	UE-PCR-50	UE-PCR-250	UE-PCR-500
Kit size	10 preps	50 preps	250 preps	500 preps
PCR column	10	50	250	500
1.5 ml Microfuge tube	10	50	250	—
2 ml Microfuge tube	10	50	250	500
Buffer PCR-A	4 ml	20 ml	100 ml	200 ml
Buffer W2 concentrate	5 ml	24 ml	2 $\times$ 72 ml	2 $\times$ 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。

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。

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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ ，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，将制备管插到负压装置的插口上；在 PCR、酶切、酶标或测序反应液中，加入 3 个体积的 Buffer PCR-A（若 Buffer PCR-A 不足 100 μl ，加至 100 μl ）；混合均匀后转



移到制备管中，开启并调节负压至-25-30 英寸汞柱，缓慢吸走管中溶液。

2A. 加 700 μ l Buffer W2，吸尽管中溶液。以同样的方法再用 700 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。

3A. 将制备管置于 2 ml 离心管（试剂盒内提供）中，12,000 $\times$ g 离心 1 min。

4A. 将制备管置于洁净的 1.5 ml 离心管中，在制备管膜中央加 25-30 μ l Eluent 或去离子水，室温静置 1 min。12,000 $\times$ g 离心 1 min 洗脱 DNA。

* 将 Eluent 或去离子水加热至 65 $^{\circ}$ C 将提高洗脱效率。

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，转移到制备管中，将制备管置于 2 ml 离心管（试剂盒内提供）中，12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃滤液。

2B. 将制备管置回 2 ml 离心管，加 700 μ l Buffer W2，12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃滤液。

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

3B. （可选步骤） 将制备管置于离心管中，将制备管置回 2 ml 离心管，加 400 μ l Buffer W2，12,000 $\times$ g 离心 1 min。

* 建议提醒顾客：从离心机中取出 2 ml 离心管时。注意：不要让管底的 Buffer W2 接触到制备管。

4B. 将制备管置于洁净的 1.5 ml 离心管中，在制备管膜中央加 25-30 μ l Eluent 或去离子水，室温静置 1 min。12,000 $\times$ g 离心 1 min 洗脱 DNA。

* 将 Eluent 或去离子水加热至 65 $^{\circ}$ C 将提高洗脱效率。

五、流程图

加样品和 3 $\times$ Buffer PCR-A.

如果需要的量少于 100 μ l,

加 100 μ l Buffer PCR-A

加 700 μ l Buffer W2

加 700 μ l 或 400 μ l Buffer W2

加 25-30 μ l of Eluent

或去离子水

