

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 μ g 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 $\times$ 72 ml	2 $\times$ 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，室温密封贮存。

Buffer PCR-A：DNA 结合溶液，室温密封贮存。

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，室温密封贮存。

Eluent：洗脱液，室温密封贮存。

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 μ g 请选择 UE-MX-PCR，洗脱液体积添加 50-100 μ l。
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) 步骤 2 之后混合液过柱离心之后将滤液再次重复离心；
 - 3) 加热洗脱液温度；
 - 4) 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 μ l Buffer A, 12,000 $\times$ 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 μ l,加至 100 μ l）。

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

本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

管中，12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃滤液。

- 4A. 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；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。

- 5A. 将制备管置回 2 ml 离心管中，12,000 $\times$ 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 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。

- 5B. 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。

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 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

