天净沙系列

CAT#:240619

常温运输和保存，有低温成份

天净沙

# 乳化 PCR 及回收试剂盒（电泳法）

# Emulsion PCR and Recovery Kit

## 使用手册 V1.1

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

## 产品及特点

本产品是即用型乳化 PCR（Emulsion PCR，ePCR）试剂盒，含乳化剂、PCR 预混液和破乳剂，广泛用于乳化 PCR 反应。本产品具有下列特点：

1. 方便，用户只需准备模板和引物即可以进行 ePCR 实验。
2. 操作步骤经过精心优化，变异系数小。
3. 扩增效率和灵敏度更高。
4. 本产品扩增和纯化后可以进行电泳检测。本试剂盒不含电泳试剂。
5. 本产品足够 50 次 50 μL 体系的 ePCR。
6. 本产品只供科研使用。

## 规格及成分

本产品用小扁盒包装，常温运输，但 ePCR MasterMix 需要低温运输

| 成份 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| ePCR 乳化剂 1 | 240619a | 1875 μL | 5 mL 棕色瓶 |
| 2 mL 本色管 | 30-008 | 5 支 | 5 孔盒 |
| 2× ePCR MasterMix | 240619b | 375 μL | 1.5 mL 本色管 |
| 双蒸水 | 240619c | 330 μL | 1.5 mL 蓝盖管 |
| 石蜡油 | 240619d | 0.5 mL | 1.5 mL 红盖管 |
| 核酸浓缩剂 | 910801 | 2.5 mL | 5 mL 本色瓶 |
| 磁力搅拌棒 | 30-029 | 2 根 | 2 mL 本色管 |
| 使用手册 | 240619sc | 1 份 | 1 份 |

## 运输及保存

常温运输及保存，其中 ePCR 乳化剂 1 常温避光保存，开封后建议 3 个月内用完；ePCR MasterMix 需要低温运输，-20℃保存，试剂盒有效期一年。

## 自备试剂

DNA 模板，引物，1.5 mL 微型离心管。

## 使用方法

**一、ePCR 体系制备**

1. 取 375 μL ePCR 乳化剂 1，置于预冷的 2 mL 本色管中，管中加 1 根磁力搅拌棒，置于磁力搅拌器上，25℃，1700×g 预搅拌，保持搅拌状态备用。
2. 取 1.5 mL 微型离心管，在 25℃条件下按下表所列成分加入试剂，制成 ePCR 乳化剂 2。

| 成份 | 含量/μL |
|---|---|
| 2× ePCR MasterMix | 75 |
| 自备引物 F | 3 |
| 自备引物 R | 3 |
| DNA 模板 | 3 |

| | |
|---|---|
| 双蒸水 | 66 |

3. 在 25℃条件下，按体积比 1:2.5 的比例将 ePCR 乳化剂 2 逐滴滴入不停搅拌的 ePCR 乳化剂 1 中，并且 ePCR 乳化剂 2 必须在 2 min 中内全部滴加完毕，当全部滴加完后，继续搅拌 5 min 使其形成乳液。
4. 取 10 只 PCR 管，将乳液按每管 50 μL 分装，并每管覆盖 10 μL 石蜡油，防止体系挥发。

**二、 ePCR**

5. 盖上盖子后上机，按下面参数进行 ePCR。

| 过程 | 温度 | 时间 |
|---|---|---|
| 预变性 | 95℃ | 2 min |
| PCR 反应<br>（30 个循环） | 95℃ | 30 sec |
| | 55℃ | 30 sec |
| | 72℃ | 30 sec |
| | 72℃ | 30 sec |

**三、 ePCR 反应产物回收**

6. 按 1:1 的比例将扩增产物与核酸浓缩剂混合，震荡使溶液充分混匀。
7. 室温 12,000×g 离心 30 秒，小心吸弃上清。
8. 剩下的下层溶液即为浓缩后的核酸溶液。

注:一次抽提可以使核酸溶液的体积减少 20%（以加入浓缩剂的体积为 100%），重复上述浓缩步骤直到核酸溶液达到所需要的体积。本方法不能除盐，因此核酸溶液中的盐离子，如果有的话，将随核酸的浓缩而浓缩。

| | |
|---|---|
| **关联产品** | 2×ePCR MasterMix |