

HiPure Universal DNA Kit

通用型 DNA 抽提试剂盒

本产品适合于从组织、细胞、血液、唾液、拭子、血斑、精液等临床样品中快速抽提 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术,提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提,也无需进行耗时的醇类沉淀,整个提取过程只需 30~60 分钟。得到的 DNA 可直接用于 PCR, 定量 PCR, Southern Blot, 病毒 DNA 检测等实验。

产品组份

产品编号	D3018-01	D3018-02	D3018-03
纯化次数	20 次	50 次	250 次
HiPure DNA Mini Columns I	20	50	250
2ml Collection Tubes	40	100	5 x 100
Buffer ATL	15 ml	30 ml	150 ml
Buffer AL	15 ml	30 ml	150 ml
Buffer GW1 *	6.6 ml	13 ml	66 ml
Buffer GW2 *	6 ml	20 ml	50 ml
Proteinase K	12 mg	24 mg	120 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	1.8 ml	15 ml
Buffer AE	5 ml	15 ml	60 ml

Buffer AE 成分: 10mM Tris, 0.5mM EDTA, pH9.0

保存条件

本产品室温(15~25℃)可保存 18 个月。Proteinase K 干粉室温运输和保存, 长期保存(>6 个月)建议保存于-20~8℃。溶解后的 Proteinase K 需保存于-20~8℃。

准备事项

- 溶解 Proteinase K (20mg/ml): 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 溶解 Proteinase K 至终浓度为 20mg/ml, 轻轻颠倒让蛋白酶 K 充分溶解。Proteinase K 干粉可在室温下保存一年, 但溶解的 Proteinase K 须分装保存于-20~8℃。
- Buffer GW1 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer GW2 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤

A. 固体组织(1~20mg)

1. 把 1~20mg 动物组织剪成尽量小的碎片, 转移至 1.5ml 离心管中。加入 250 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K, 55℃振荡温浴 30~60 分钟或过夜, 直到组织完全消化。
若需去除 RNA, 加入 10 μ l RNase A 至消化液中混匀后, 室温静置 10 分钟。若消化液比较浑浊或存在未消化物质, 10,000 x g 离心 3 分钟。转移上清液至新的 1.5ml 离心管中。
2. 加入 250 μ l Buffer AL, 高速涡旋混匀 5 秒, 70℃温浴 10 分钟。
3. 加入 250 μ l 无水乙醇, 高速涡旋 5~10 秒, 按第 5 步进行操作。

B. 抗凝血液(200 μ l)

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 20 μ l Proteinase K 和 200 μ l 抗凝血液或血浆等体液样品, 混匀。
2. 加入 200 μ l Buffer AL, 颠倒混匀 3-5 次, 高速涡旋 10 秒, 70℃温浴 10 分钟。
3. 加入 200 μ l 无水乙醇至样品中, 涡旋混匀 10 秒, 按第 5 步进行操作。

C. 脱落细胞

1. 在 15-50ml 离心管中, 加入 3-10ml 羊水、10-50ml 尿液, 1~3ml 积液或体液, 2000 x g 离心 10 分钟收集脱落细胞, 倒弃上清液。短暂离心, 吸尽残液。
2. 加入 20 μ l Proteinase K 和 250 μ l Buffer ATL, 55℃振荡温浴 20 分钟。
3. 加入 250 μ l Buffer AL 至样品中, 高速涡旋 5 秒。
4. 加入 250 μ l 无水乙醇至样品中, 高速涡旋 10 秒。按第 5 步进行操作。

D. 培养细胞

1. 计算细胞数量。1,000 x g 离心 5 分钟收集细胞 ($< 5 \times 10^6$), 吸弃培养液, 加入 200 μ l Buffer PBS, 涡旋重悬细胞。
2. 加入 200 μ l Buffer AL 和 20 μ l Proteinase K 至样品中, 涡旋 10 秒, 70 $^{\circ}$ C 振荡温浴 10 分钟。
3. 加入 200 μ l 无水乙醇, 涡旋 10 秒。按第 5 步进行操作。

E. 精液/分泌液/痰液样品

1. 转移 150 μ l 精液、分泌液、痰液样品至 1.5ml 离心管中。加入 100 μ l Buffer ATL、10 μ l DTT(1M) 和 20 μ l Proteinase K 至样品中, 55 $^{\circ}$ C 振荡温浴 60 分钟。
2. 加入 250 μ l Buffer AL 至样品, 涡旋混匀 10 秒。70 $^{\circ}$ C 温浴 10 分钟。
3. 加入 250 μ l 无水乙醇至样品, 涡旋混匀 10 秒。按第 5 步进行操作。

F. 干拭子 DNA 提取

1. 转移拭子至 2ml 离心管, 加入 500 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K, 56 $^{\circ}$ C 振荡温浴 1 小时。
2. 加入 500 μ l Buffer AL 和 500 μ l 无水乙醇, 涡旋 10 秒, 按第 5 步进行操作。

G. 湿拭子 DNA 提取

1. 10,000 x g 离心 1 分钟收集脱落细胞, 去除多余液体, 余下约 300 μ l 溶液和拭子。
2. 加入 300 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K, 涡旋混匀。56 $^{\circ}$ C 振荡温浴 1 小时。
3. 加入 300 μ l Buffer AL 和 500 μ l 无水乙醇, 涡旋 10 秒。按第 5 步进行操作。

H. 血斑/精斑样品

1. 用打孔器从干血片中切出 3~6 片直径为 3mm 的带血圆片, 并转移至 2.0ml 离心管中。加入 500 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K 至样品中。55 $^{\circ}$ C, 1200~1400rpm 振荡温浴 60 分钟。处理精斑样品时, 再加入 10 μ l 1M DTT 至样品中, 再温育。
2. 加入 500 μ l Buffer AL 至样品中, 70 $^{\circ}$ C 振荡 (1200~1400rpm) 10 分钟。10,000 x g 离心 1 分钟收集管壁上的液滴, 转移消化液至 1.5ml 离心管中。
3. 加入 500 μ l 无水乙醇至裂解液中, 涡旋混匀 10 秒。按第 5 步进行操作。

I. 头发和指甲等样品

1. 把头发、指甲等样品转移至 2.0ml 离心管中, 加入 250 μ l Buffer ATL、20 μ l Proteinase K 和 10 μ l 1M DTT 至样品中, 55 $^{\circ}$ C 振荡温浴 1~3 小时。

2. 加入 250 μ l Buffer AL, 涡旋 10 秒, 70 $^{\circ}$ C 温浴 10 分钟。10,000 \times g 离心 3 分钟。
3. 转移上清液至新的离心管中, 加入 250 μ l 无水乙醇, 涡旋 10 秒。按第 5 步进行操作。

K. 培养细菌 (阴性细菌)

1. 转移 0.5-1.5ml 细菌培养液 ($<10^8$) 至离心管中, 10,000 \times g 离心 1 分钟, 倒弃培养液。
革兰氏阳性细菌: 细菌沉淀中用 300 μ l Buffer TE 和 10 μ l Lysozyme(50mg/ml) 涡旋重悬, 室温放置 5-15 分钟。10,000 \times g 离心 1 分钟, 吸弃上清液。
2. 加入 200 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K, 65 $^{\circ}$ C 温育 20 分钟。
3. 10,000 \times g 离心 3 分钟, 转移上清液至新的离心管中。
4. 加入 200 μ l Buffer AL 和 200 μ l 无水乙醇, 涡旋 10 秒。按第 5 步进行操作。

过柱纯化

5. 把 HiPure DNA Mini Column I 装在 2ml 收集管中。转移 $<750\mu$ l 混合液(包括沉淀)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
6. (可选:混合液超过 750 μ l) 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。转移剩余混合液(包括沉淀)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。弃去滤液和收集管。
7. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 650 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。10,000 \times g 离心 3 分钟。
10. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 50~100 μ l 预热至 70 $^{\circ}$ C Buffer AE 至柱子的膜中央, 放置 3 分钟。10,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 把洗脱液或 50~100 μ l 预热至 70 $^{\circ}$ C Buffer AE 加到柱子的膜中央, 放置 3 分钟。10,000 \times g 离心 1 分钟。
12. 丢弃 DNA 结合柱, 把 DNA 保存于 2~8 $^{\circ}$ C, 长期保存需保存于 -20 $^{\circ}$ C。