

## 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

### 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℃。低温下，Buffer ATL 可能会有沉淀形成，需 55℃ 水浴让沉淀完全溶解。

## 准备事项

- 无水乙醇(96-100%)
- 振荡金属浴
- 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(1~10mg)

1. 把 1~10mg 组织样品剪成尽量小的碎片, 转移至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 200 $\mu$ l Buffer ATL 和 20 $\mu$ l Proteinase K, 55℃振荡温浴 30~60 分钟。  
若需去除 RNA, 加入 10 $\mu$ 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  $\times$  g 离心 3 分钟。转移上清液至新的 1.5ml 离心管中。
3. 加入 200 $\mu$ l Buffer AL 至样品中, 高速涡旋 10 秒, 70℃温浴 10 分钟。
4. 加入 200 $\mu$ l 无水乙醇至样品中, 高速涡旋 10 秒, 按第 5 步进行操作。

### B. 抗凝血液(200 $\mu$ l)

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 20 $\mu$ l Proteinase K。
2. 转移 200 $\mu$ l 抗凝血液、血浆、血水等样品至装有 Proteinase K 管子中, 振荡混匀 5 秒。
3. 加入 200 $\mu$ l Buffer AL 至样品中, 高速涡旋 10 秒。70℃振荡温浴 10 分钟。
4. 加入 200 $\mu$ l 无水乙醇至样品中, 高速涡旋 10 秒。按第 5 步进行操作。

### C. 唾液/血浆等液体样品(DNA 含量低样品)

1. 在 2ml 离心管中, 加入 20 $\mu$ l Proteinase K。
2. 转移 500 $\mu$ l 唾液等样品至装有 Proteinase K 的离心管中, 振荡混匀 5 秒。
3. 加入 500 $\mu$ l Buffer AL 至样品中, 高速涡旋 10 秒。65℃振荡温浴 30 分钟。
4. 加入 500 $\mu$ l 无水乙醇至样品中, 高速涡旋 15 秒。按第 5 步进行操作。

#### D. 培养细胞

1. 计算细胞数量。1,000 × g 离心 5 分钟收集细胞 ( $< 2 \times 10^6$ )，小心吸弃培养液。
2. 加入 200µl Buffer PBS 和 20µl Proteinase K 至样品中，涡旋 15 秒打散细胞。  
若需去除 RNA，加入 5µl RNase A 至样品中混匀，室温静置 10 分钟。
3. 加入 200µl Buffer AL 至样品中，高速涡旋 10 秒。65°C 振荡温浴 15 分钟。
4. 加入 200µl 无水乙醇，高速涡旋 10 秒。按第 5 步进行操作。

#### E. 精液样品

1. 涡旋打散精液样品，转移 150µl 精液至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 100µl Buffer ATL、10µl DTT(1M)和 20µl Proteinase K 至样品中。55°C 振荡温浴 60 分钟。
3. 加入 250µl Buffer AL 至重悬液中，涡旋混匀 10 秒。70°C 温浴 10 分钟。
4. 加入 250µl 无水乙醇，涡旋混匀 10 秒。按第 5 步进行操作。

#### F. 干拭子 DNA 提取

1. 把拭子转移至 2ml 离心管中。加入 500µl Buffer ATL 和 20µl Proteinase K，涡旋混匀。  
56°C 振荡温浴 1 小时。
2. 加入 500µl Buffer AL，涡旋 15 秒。70°C 温浴 10 分钟。
3. 加入 250µl 无水乙醇，涡旋 15 秒。按第 5 步进行操作。

#### G. 湿拭子 DNA 提取

1. 10,000 × g 离心 1 收集细胞，去除多余的上清液，余下约 300µl 溶液和拭子。
2. 加入 300µl Buffer ATL 和 20µl Proteinase K，涡旋混匀。56°C 振荡温浴 1 小时。
3. 加入 300µl Buffer AL，涡旋 15 秒。70°C 温浴 10 分钟。
4. 加入 500µl 无水乙醇，涡旋 15 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 500µl Buffer ATL 和 20µl Proteinase K 至样品中。55°C 振荡 (1200~1400rpm)温

浴 30~60 分钟。(处理精斑时, 再加入 10 $\mu$ l 1M DTT)

2. 加入 500 $\mu$ l Buffer AL 至样品中, 涡旋混匀, 70 $^{\circ}$ C 振荡 (1200~1400rpm)10 分钟。
3. 13,000  $\times$  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。
4. 加入 500 $\mu$ l 无水乙醇至裂解液中, 涡旋混匀 15 秒。按第 5 步进行操作。

#### H. 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  $\mu$ l Buffer ATL、20 $\mu$ l Proteinase K 和 10 $\mu$ l 1M DTT 至样品中。55 $^{\circ}$ C 振荡温浴 1~3 小时。
2. 加入 250 $\mu$ l Buffer AL 至样品中, 涡旋混匀 10 秒, 70 $^{\circ}$ C 温浴 10 分钟。
3. 10,000  $\times$  g 离心 3 分钟。
4. 转移上清液至新的离心管中, 加入 250 $\mu$ l 无水乙醇至裂解液中, 涡旋混匀 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000  $\times$  g 离心 1 分钟。  
Buffer GW2 使用前, 须用无水乙醇进行稀释。处理 DNA 含量低的样品时, 重复用 650 $\mu$ l Buffer GW2 洗涤柱子一次。
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 20~100 $\mu$ 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. 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。