

## HiPure Circulating DNA Micro Kit

### 游离 DNA 小提试剂盒 (0.6ml)

HiPure Circulating DNA Micro Kit 为血清、血浆和其它无细胞液体样品的循环 DNA 提取提供了一个简单快速的解决方案。循环 DNA 是指游离在细胞外的 DNA，它是细胞凋亡产生的。循环 DNA 片断一般在 1KB 以下。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。得到的循环 DNA 可直接用于定量 PCR，液相或固相芯片分析，杂交和 SNP 检测等分析。HiPure Circulating DNA Micro Kit 适合于从 0.6ml 血浆中捕获极微量的游离核酸。

### 产品组份

产品编号	D3180-01	D3180-02	D3180-03
纯化次数	10 Preps	50 Preps	250 Preps
Buffer ACL	10 ml	40 ml	180 ml
Buffer GW1 *	6.6 ml	13 ml	66 ml
Buffer GW2 *	6 ml	20 ml	50 ml
Buffer AE	10 ml	10 ml	30 ml
Carrier RNA	120 µg	120 µg	310 µg
Proteinase K	12 mg	36 mg	180 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	5 ml	15 ml
HiPure Viral Mini Columns	10	50	250
2ml Collection Tube	20	100	5 x 100
说明书	1	1	1

## 保存条件

本产品室温(15~25℃)可保存 18 个月。Proteinase K/Carrier RNA 干粉室温运输和保存，收到产品后，建议保存于-20~8℃。溶解后的 Proteinase K/Carrier RNA 需保存于-20~8℃。

## 准备事项

- 无水乙醇(96~100%)
- 异丙醇
- 60℃水浴锅
- 溶解 Proteinase K (20mg/ml): 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 至装有 Proteinase K 的瓶子中，至终浓度为 20mg/ml。轻轻颠倒让 Proteinase K 干粉充分溶解。溶解后 Proteinase K 须保存于-20℃。反复冻溶 Proteinase K 会影响其活性。
- 按瓶子标签所示，加入无水乙醇稀释 Buffer GW2，并于室温保存。
- 按瓶子标签所示，加入无水乙醇稀释 Buffer GW1，并于室温保存。
- 溶解 Carrier RNA (0.2µg/µl): 按下表加入适量的试剂至装有 Carrier RNA 干粉管至终浓度为 0.2µg/µl。涡旋混匀，室温放置 10 分钟让 Carrier RNA 干粉充分溶解。溶解后分装保存于-20℃。

产品编号	D3180-01	D3180-02	D3180-03
Carrier RNA	120 µg	120 µg	310 µg
Buffer AE	550 µl	550 µl	1.55 ml
Proteinase K	5 µl	5 µl	20 µl

## 实验步骤

1. 转移 30 $\mu$ l Proteinase K 至 2.0ml 离心管中。
2. 转移 0.6ml 血浆或其它液体样品至装有 Proteinase K 离心管中。
3. 加入 0.6ml Buffer ACL 和(可选)5 $\mu$ l Carrier RNA 至样品中, 涡旋混匀 15 秒。60 $^{\circ}$ C 水浴 15~20 分钟, 其间偶尔颠倒数次混匀。
4. 加入 0.3ml 异丙醇至样品中, 涡旋混匀 15 秒。室温放置 3 分钟。
5. 把 HiPure Viral Mini Column 装在 2ml 收集管中。转移一半体积(750 $\mu$ l)混合液至柱子中。13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
6. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。转移剩余混合液至柱子中。13,000  $\times$  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)至柱子上。13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 500 $\mu$ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 500 $\mu$ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。13,000  $\times$  g 离心 2 分钟。
11. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。60 $^{\circ}$ C 进一步干燥柱子 5 分钟。
12. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~50 $\mu$ l Buffer AE 或灭菌水至柱子的膜中央。放置 3 分钟, 13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
13. 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。

## 常见问题

### 1. 柱子堵塞

- **样品保存不当:** 血液样品发生溶血，减少样品用量。
- **样品杂质过多:** 于 16,000 × g 离心 10 分钟，去除样品中多余的杂质。
- **Proteinase K 活性下降:** 重新制备 Proteinase K。使用后 Proteinase K 必须保存于-20℃。Proteinase K 与 Buffer ACL 不能预先混合。
- **样品裂解不充分:** 样品与 Buffer ACL 混匀不充分。重新提取，加入 Buffer ACL 后先颠倒混匀 3~5 次，然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer ACL 充分混匀。

### 2. DNA 纯度不达标

- **柱子需要充分 56℃ 干燥:** 彻底干燥去除乙醇，对下游酶促反应很关键。
- **样品杂质过多:** 于 16,000 × g 离心 10 分钟，去除样品中多余的杂质。