

HiPure DNA EF Concentrate Kit

DNA 浓缩试剂盒(去内毒素)

简介

HiPure DNA EF Concentrate Kit 是专门为 DNA 样品的浓缩设计的。传统的醇类（乙醇或异丙醇）沉淀回收核酸，需要长时间离心，以及存在回收不稳定的现象。特别是回收微量的核酸样品时，传统醇类往往还需加入核酸促沉剂，如糖原，tRNA 等，这些核酸促沉剂有可能会影响下游的应用。HiPure DNA EF Concentrate Kit 无需核酸促沉剂，可提高微量核酸的回收率和稳定性，减少样品在浓缩过程丢失的风险。HiPure DNA EF Concentrate Kit 可处理纳克至微克的 DNA 样品。

试剂盒组成

编号	D2145-02	D2145-03
纯化次数	50 次	250 次
HiPure DNA Micro Column	50	250
2ml Collection Tubes	50	250
Buffer ER2	6 ml	30 ml
Buffer NA	6 ml	30 ml
Buffer GW2*	20 ml	50 ml
Elution Buffer	10 ml	30 ml

保存条件

HiPure Nucleic Acid Concentrate Kit 室温保存，有效期 18 个月。

准备工作

- 异丙醇
- 乙醇
- 离心机(室温, 10,000 x g)
- 按瓶子标签所示，加入适量的无水乙醇至 Buffer GW2 中，于室温保存。

操作流程 (不超过 100 µg)

1. 转移 DNA 样品至 1.5ml 离心管中，用 Elution Buffer 调整至总体积 450µl，加入 50µl Buffer NA，混匀 5 秒。
2. 加入 50µl Buffer ER2，涡旋混匀 10 秒，冰上放置 10 分钟，期间颠倒数次。
若样品体积超过 450µl，按比例加入 Buffer NA 和 ER2。
3. 室温下，12,000 x g 离心 10 分钟，转移上层溶液至新的离心管中。
超过 20°C 时，Buffer ER2 与内毒素结合在一起形成液泡结构不溶于水，在离心后在离心管底部形成红色溶液层。若离心后若没有形成分层，颠倒 5-6 次，37-42°C 温育 3-5 分钟，再重复离心步骤，并确保离心机处于室温或已完全恢复室温。
4. 加入 0.7 倍体积的异丙醇至上清液中，涡旋混匀 10 秒。室温放置 10 分钟。
5. 将 HiPure DNA Micro Column 套在 2ml 收集管中。把第 4 步获得的混合液(<700µl)转移至柱子中。室温下，8,000 x g 离心 30~60 秒。
若混合液体积超过 700µl 时，一次转移 700µl 至柱子中，多余的混合液分次转移至柱子再离心。
6. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 600µl Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。室温下，8,000 x g 离心 30~60 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。室温下，10,000 x g 离心 3 分钟干燥柱子。
8. 把柱子套在灭菌的 1.5ml 离心管中，加入 15~50µl Elution Buffer 或灭菌水至柱子膜中央。静置 3 分钟。10,000 x g 离心 1 分钟。
洗脱体积会影响到核酸的回收效率和浓度。处理小于 10µg 的质粒 DNA，或小于 10Kb 的 DNA 片段时，一次 10~30µl Elution Buffer 洗脱，就可以得到 70-90%的核酸，无需第二次洗脱。若核酸的浓度超过 1µg/µl 时，建议进行第二步洗脱。处理基因组 DNA 时，建议两次洗脱以提高回收效率。
9. 丢弃柱子，把 DNA 保存于 -20°C 或 -70°C。