

HiPure Total RNA/DNA Mini to Midi Kit

总核酸小柱中提试剂盒

产品组份

产品编号	R4170-01	R4170-02	R4170-03
纯化次数	2 次	10 次	50 次
纯化大柱 F4	2	10	50
5ml 圆底离心管	2	10	50
50ml 离心管 (垫片)	2	10	50
Proteinase K Solution	0.5 ml	3 ml	11 ml
Carrier RNA	110 µg	110 µg	310 µg
Buffer ACL	15 ml	60 ml	300 ml
Buffer VHB*	4.4 ml	13 ml	26 ml
Buffer RW2*	2 ml	10 ml	50 ml
Nuclease Free Water	1.8 ml	10 ml	30 ml

产品编号	R4170-01B	R4170-02B	R4170-03B
纯化次数	2 次	10 次	50 次
HiPure Viral Mini Column	2	10	50
Extender Tubes (延长管)	2	10	50
Support Tubes (支撑管)	2	10	50
50ml 离心管	2	10	50
Proteinase K Solution	0.5 ml	3 ml	11 ml
Carrier RNA	110 µg	110 µg	310 µg
Buffer ACL	15 ml	60 ml	300 ml
Buffer VHB*	4.4 ml	13 ml	26 ml
Buffer RW2*	2 ml	10 ml	50 ml
Nuclease Free Water	1.8 ml	10 ml	30 ml

产品简介

本产品适合于从血清、血浆、牛奶、体液、培养液、组织匀浆液、拭子等样品中提取病毒RNA和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。该产品已经成功地提取了对虾乙肝A/C、丙肝RNA、SARS以及HIV等。获得的RNA可直接用于RT-PCR、Northern杂交、以及各种病毒检测等。获得的DNA可直接用于PCR、荧光定量PCR、病毒检测等。

保存条件

本产品室温(15~25℃)可保存 18 个月。低温下，Buffer ACL 可能会有沉淀形成，需 55℃ 水浴让沉淀完全溶解。Proteinase K/Carrier RNA 室温运输和保存，长期保存建议保存于-20~-8℃。

准备事项

- 无水乙醇(96-100%)
- Carrier RNA 固体使用前必须用 Nuclease Free Water 至 1 μ g/ μ l，涡旋 30 秒，保存-20℃。为方便使用，可以把溶解好的 Carrier RNA 全部转移至溶解好的 Proteinase K，混匀后，保存于-20℃。
- Buffer VHB 使用前必须用无水乙醇稀释，并于室温保存。
- Buffer RW2 使用前必须用无水乙醇稀释，并于室温保存。
- 若采用水平或桶状离心机时，把离心速度调至最高速度(~5000rpm)，由于水平转子离心力比较低，洗脱时死体积较大(~50 μ l)，建议每次加入不少于 100 μ l 洗脱液以充分洗脱出 DNA。使用角度离心机时，洗脱时提高离心速度至 10000rpm，可以有效减少死体积至 ~10 μ l，此时为获得更高浓度核酸，每次洗脱可以低至 60 μ l。
- 纯化大柱 F4 也可以采用真空抽滤过柱。

实验步骤 (R4170)

1. 转移 1~10ml 待测样品，如血清、血浆、尿液、组织匀浆液上清、培养液上清、或其它无细胞体液至装有 5~15ml 离心管中。
若需要去除体细胞 DNA，加入 0.01 倍样品体积的 DNase I (10mg/ml, 货号: R4914) 和 0.1 倍样品体积的 DNase Buffer，颠倒混匀，室温放置 30 分钟，消化去除胞外的 DNA 和 RNA。
血浆血清类样品，富集蛋白质，样品用量最好不要超过 3ml，以免产生堵柱现象。尿液，培养液上清液等，样品用量可以高达 10ml，不足的 Proteinase K 和 Buffer ACL 需要另外订购。
2. 加入 0.1 倍样品体积的 Proteinase K 至样品中，颠倒混匀 5 次。
3. 加入等倍样品体积的 Buffer ACL 和 5 μ l Carrier RNA，涡旋混匀 10 秒，55 $^{\circ}$ C 温育 20 分钟，其间颠倒混匀数次。
4. 加入 0.6 倍样品体积的异丙醇，涡旋混匀 10 秒，室温静置 3 分钟。
例：5ml 样品，加入 500 μ l Proteinase K，5ml Buffer ACL、5 μ l Carrier RNA 和 3.0ml 异丙醇。
5. 取纯化大柱 F4 放在 50ml 收集管中，转移不超过 15ml 混合液至柱子中，8000 rpm 离心 1 分钟。第 5~7 步使用水平或桶状离心机，5000rpm 离心 2 分钟。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，加入 1.5 ml Buffer VHB，8000 rpm 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 4.5 ml Buffer RW2，8000 rpm 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。8,000rpm 离心 5 分钟甩干柱子。
采用水平桶状离心机，这一步建议最高速度 (5000~5500rpm) 离心 10 分钟甩干柱子。
9. 倒弃滤液，把收集管反扣于吸水纸拍打吸尽残液。把 1.5ml 离心管装在 5ml 圆底离心管中，并一起放到 50ml 收集管中。
10. 加入 60 μ l Nuclease Free Water 至纯化大柱 F4 的膜中央，然后纯化大柱 F4 放回收集管中，并让柱子底部插入 5ml 离心管的管口，静置 2 分钟，11000rpm 离心 2 分钟。
这一步推荐高速角度离心机以充分甩出洗脱液。若需得到最高产量，再加入 20~30 μ l Nuclease Free Water 进行第二次洗脱。若只有水平或桶状离心机，调整至最高速度，并进行两次洗脱，每次用 80 μ l 洗脱液。
11. (可选) 再加入 30~50 μ l Nuclease Free Water 至柱子膜中央，放置 2 分钟。11,000rpm 离心 2 分钟。
12. 弃去柱子，小心用镊子或移液枪头挑出 1.5ml 离心管，盖好盖子，待用或保存于-20 度。

实验步骤 (R4170B)

1. 转移 1~10ml 待测样品，如血清、血浆、尿液、组织匀浆液上清、培养液上清、或其它无细胞体液至装有 5~15ml 离心管中。
若需要去除体细胞 DNA，加入 0.01 倍样品体积的 DNase I (10mg/ml, 货号: R4914) 和 0.1 倍样品体积的 DNase Buffer，颠倒混匀，室温放置 30 分钟，消化去除胞外的 DNA 和 RNA。
血浆血清类样品，富集蛋白质，样品用量最好不要超过 3ml，以免产生堵柱现象。尿液，培养液上清液等，样品用量可以高达 10ml，不足的 Proteinase K 和 Buffer ACL 需要另外订购。
2. 加入 0.1 倍样品体积的 Proteinase K 至样品中，颠倒混匀 5 次。
3. 加入等倍样品体积的 Buffer ACL 和 5 μ l Carrier RNA，涡旋混匀 10 秒，55 $^{\circ}$ C 温育 20 分钟，其间颠倒混匀数次。
4. 加入 0.6 倍样品体积的异丙醇，涡旋混匀 10 秒，室温静置 3 分钟。
例：5ml 样品，加入 500 μ l Proteinase K，5ml Buffer ACL、5 μ l Carrier RNA 和 3.0ml 异丙醇。
5. 把 Extender Tubes 插到 HiPure Vrial Mini Column 中，然后再 Column 插到 Support Tube 中。把三个连接好的组件一起放到 50ml Centrifuge Tube 中。
为防止溶液从 Extender Tubes 和柱子的侧壁流出，把 Extender Tubes 用力插到柱子中，且不要使用其它 50ml 离心管。当 Extender Tube, 柱子和 Support Tubes 放到 50ml 离心管中后，有 2-3mm 突出，用力下压并旋紧盖子。
6. 转移不超过 15ml 混合液至 Extender Tubes 中，用力压紧并旋紧，3,000 x g 离心 5 分钟。
7. 取出 Extender Tubes/柱子/Support Tubes。倒弃滤液，再把整套柱子装回收集管中。把余下的混合液再转移至 Extender Tubes 中，用力压紧并旋紧盖子，3,000 x g 离心 5 分钟。
8. 倒弃 Extender Tube、Support Tube 和 50ml 离心管。
9. 倒弃滤液把柱子装在收集管，加入 700 μ l Buffer VHB 至柱子，13,000 x g 离心 60 秒。
10. 倒弃滤液把柱子装在收集管，加入 700 μ l Buffer RW2 至柱子，13,000 x g 离心 60 秒。
11. 倒弃滤液把柱子装在收集管，加入 700 μ l Buffer RW2 至柱子，13,000 x g 离心 60 秒。
12. 倒弃滤液把柱子装回收集管中，13,000 x g 离心 3 分钟。
13. 取出柱子，装在 1.5ml 新的收集管中，56~65 $^{\circ}$ C 烘干 10 分钟。
14. 加入 25~50 μ l Nuclease Free Water 至柱子的膜中央，放置 3 分钟，13,000 x g 离心 1 分钟。丢弃柱子，把 DNA/RNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C。