

HiPure Nucleic Acid Concentrate Kit

核酸浓缩试剂盒

产品简介

HiPure Nucleic Acid Concentrate Kit 是专门为 DNA 和 RNA 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 Nucleic Acid 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 NA Concentrate Kit 可处理纳克至微克的 DNA 和 RNA 样品。

产品组份

编号	D2146-01	D2146-02	D2146-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure DNA Micro Column	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer NA	3ml	10 ml	40 ml
Buffer RW2*	5ml	20 ml	50 ml
RNase Free Water	5ml	10 ml	30 ml

保存条件

本产品可以室温保存 18 个月。

准备事项

- 异丙醇
- 乙醇
- Buffer TE(可选, 回收大片段 DNA)
- 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 RW2 中, 于室温保存。

操作流程

1. 转移 DNA 或 RNA 样品，或酚氯仿抽提后的上清液至 1.5ml 离心管中。

质粒 DNA 或 RNA 样品用量不超过 50 μ g。样品小于 200 μ l，用 RNase Free Water 或灭菌水调整至 200 μ l。

若样品中含有较多蛋白质、酶或其它杂质，加入等倍体积的酚氯仿(C493)至样品中，涡旋混匀后，10,000 x g 离心 10 分钟，转移上清液，再按第二步进行操作。

2. 加入 0.1 倍的 Buffer NA，颠倒混匀，加入等倍体积异丙醇至样品中，颠倒混匀 10-15 次，室温静置 10 分钟。

样品体积为 200 μ l，需加入 20 μ l Buffer NA 和 200 μ l 异丙醇。若样品中 DNA 或 RNA 低于 1 μ g 时，-20 度放置 1 小时。

3. 将 HiPure DNA Micro Column 套在 2ml 收集管中。把第 2 步获得的混合液(<750 μ l) 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 750 μ l 时，一次转移 750 μ l 至柱子中，多余的混合液分次转移至柱子再离心。当 DNA 或 RNA 超过 50 μ g，提高离心速度或离心时间让全部混合液充分过柱。

4. 倒弃滤液，把柱子套回收集中。加入 600 μ l Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子中。室温下，8,000 x g 离心 30~60 秒。

Buffer RW2 使用前，须按瓶子上的标签指示用无水乙醇稀释。

5. 倒弃滤液，把柱子套回收集中。12,000 x g 离心 3 分钟干燥柱子。

6. 把柱子套在灭菌的 1.5ml 离心管中，加入 10~50 μ l RNase Free Water 、或 Buffer TE 或灭菌水至柱子膜中央。静置 2~3 分钟。12,000 x g 离心 1 分钟。丢弃柱子，把 DNA/RNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -70 $^{\circ}$ C。

回收 DNA 时，最好用 Buffer TE 进行洗脱。处理大于 >10Kb DNA 片段，把洗脱液预热至 65 $^{\circ}$ C，再加入到柱子膜中央，可明显提高大片段 DNA 的回收率。

洗脱体积会影响到核酸的回收效率和浓度。处理小于 5 μ g 的质粒 DNA 或 RNA，或小于 10Kb 的 DNA 片段时，一次 10~30 μ l 洗脱液，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 1 μ g/ μ l 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。

常见问题

1. 回收效率低

- **洗脱不充分：**建议用洗脱液洗脱两次，以获得最高的回收率。洗脱液必须加入柱子的膜中央。洗脱效率取决于洗脱体积和次数。
- **试剂准备有误：**Buffer RW2 没有加入乙醇稀释或体积不准确(乙醇浓度需控制在 80%)。
- **样品含有表面活性剂：**处理含表面活性剂的酶促反应液时，用酚氯仿或氯仿抽提后再进行浓缩。

2. 连接不理想

- **乙醇污染：**洗脱 DNA 前，打开柱子的盖子，空气干燥 10~15 分钟。

3. 连接不理想

- **乙醇污染：**洗脱 DNA 前，打开柱子的盖子，空气干燥 10~15 分钟以彻底去除乙醇。