

目 录

简 介.....	2
原 理.....	2
保质期.....	2
试剂盒组成.....	3
1. HiPure DNA Clean Up Kit 纯化方案.....	5
2.HiPure Nucleitode Removal Kit 纯化方案.....	7
3.HiPure Oligo Pure Kit 纯化方案.....	9
4. HiPure RNA Clean Up Kit 纯化方案.....	11
常见问题回答.....	12

版本: 2010-10

简介

HiPure DNA/RNA Clean Up Kits 采用硅胶柱纯化方式，可快速地从 DNA 或 RNA 酶促反应液和粗制的产物中进一步纯化回收 DNA 或 RNA 片段。

- HiPure DNA Clean Up Kit 采用硅胶柱纯化技术，适合于从粗制的基因组 DNA、酶切体系、标记反应，酶促反应液中回收纯化 DNA。纯化的 DNA 可直接用于自动测序，连接，酶切，PCR，标记等。
- HiPure Nucleotide Removal Kit 采用硅胶柱纯化技术，适合于从 PCR 产物、酶切体系、反转录反应(cDNA)，标记反应，酶促反应液中去除小于 17bp 寡聚核苷酸，核苷酸等杂质。纯化的 DNA 或 cDNA 可直接用于自动测序，连接，酶切，PCR，标记等。
- HiPure Oligo Pure Kit 采用硅胶柱纯化技术，适合于从各种反应液等中回收纯化小分子单链或双链的 DNA 和 RNA。
- HiPure RNA Clean Up Kit 试剂盒采用硅胶柱纯化技术，适合于从标记反应，酶促反应液或粗制的 RNA 中进一步回收纯化 RNA。纯化的 RNA 可直接用于 RT-PCR，定量 RT-PCR，cDNA 文库构建等。

原理

HiPure 硅胶柱是采用高结合力的玻璃纤维滤膜为基质。滤膜在高浓度离子化剂(如盐酸胍或异硫氰酸胍)条件下，可通过氢键和静电等物理因素吸附核酸，而蛋白质或其它杂质不被吸附而去除。吸附了核酸的滤膜经洗涤去除蛋白质和盐，最后可以用低盐缓冲液(如 Buffer TE)或水，洗脱出滤膜上吸附的核酸。得到的核酸纯度高，可直接用于各种下游实验。

组 成

HiPure DNA Clean Up Kit

Cat.No.	D2141-01	D2141-02	D2141-03
Package	10 Preps	50 Preps	250 Preps
Buffer GXP	10 ml	40 ml	170 ml
Buffer DW2*	6 ml	20 ml	2 x 50 ml
Elution Buffer	1.8 ml	20 ml	60 ml
HiPure DNA Mini Columns I	10	50	250
2 ml Collection Tube	10	50	250

HiPure Nucleotide Removal Kit

Cat.No.	D2142-01	D2142-02	D2142-03
Package	10 Preps	50 Preps	250 Preps
Buffer NP	15 ml	60 ml	250 ml
Buffer DW2*	6 ml	20 ml	2 x 50 ml
Elution Buffer	1.8 ml	10 ml	30 ml
HiPure DNA Mini Columns	10	50	250
2 ml Collection Tubes	10	50	250

保 质 期

该试剂盒所有的组份必须在保存于室温，保质期为 18 个月。

组成

HiPure Oligo Pure Kit

Cat.No.	D2143-01	D2143-02	D2143-03
Package	10 Preps	50 Preps	250 Preps
Buffer OP	5 ml	30 ml	120 ml
Buffer RW2*	5 ml	20 ml	2 x 50 ml
Nuclease Free Water	1.8 ml	15 ml	30 ml
HiPure DNA Mini Columns I	10	50	250
2 ml Collection Tube	10	50	250

HiPure RNA Pure Micro Kit

Cat.No.	R2144-01	R2144-02	R2144-03
Package	10 Preps	50 Preps	250 Preps
Buffer RP	5 ml	30 ml	120 ml
Buffer RW2*	5 ml	20 ml	2 x 50 ml
DEPC Water	1.8 ml	10 ml	60 ml
HiPure RNA Mini Columns I	10	50	250
2 ml Collection Tube	10	50	250

保质期

该试剂盒所有的组份必须在保存于室温，保质期为 18 个月。

1. HiPure DNA Clean Up Kit 提取方案(D2141)

该方案采用硅胶柱纯化方式，适合于从酶促反应物，粗制基因组 DNA 产物中进一步纯化 DNA。以下离心都必须在室温下进行。

1. 短暂离心 DNA 产物。用移液枪测量其体积，并转移至灭菌的 1.5ml 离心管中。用灭菌水将样品体积调整至 150 μ l。
2. **加入 350 μ l Buffer GXP**，涡旋混匀 10 秒。
3. (可选): 若回收的 DNA 大于 5Kb, 加入 250 μ l 无水乙醇, 颠倒混匀 10~15 次。若回收片段小于 100bp, 加入 750 μ l 无水乙醇, 颠倒混匀 10~15 次。
4. 短暂离心收集管壁上的液滴。按离心方案或负压抽滤进行操作。

离心方案

5. 将 HiPure DNA 柱子套在收集管中。**把混合液(第 3 步获得的)转移至柱子中。**8,000 \times g 离心 30-60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 600 μ l Buffer DW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。**静置 2 分钟。8,000 \times g 离心 30-60 秒。
注：使用 Buffer DW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
7. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 600 μ l Buffer DW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。**静置 2 分钟。8,000 \times g 离心 30-60 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。12,000 \times g 离心 2 分钟。
9. 把柱子套在 1.5ml 离心管中。**加入 15-30 μ l 预热至 55 $^{\circ}$ C Elution Buffer 至柱子膜中央。**放置 2 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。
10. (可选)再加入 15-30 μ l 预热至 55 $^{\circ}$ C Elution Buffer 至柱子膜中央。放置 2 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 丢去柱子，把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

负压抽滤方案

4. 连接好真空泵和抽滤盒，把柱子插到抽滤盒的接口处。
5. **转移第三步混合液至柱子中。**打开真空泵进行抽滤。
6. 溶液过滤完毕后，**加入 700 μ l Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。**
使用 Buffer DW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
7. 溶液过滤完毕后，**加入 700 μ l Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。**溶液过滤完毕后，关闭真空泵。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。12,000 \times g 离心 2 分钟。
9. 把柱子套在 1.5ml 离心管中。**加入 15-30 μ l 预热至 55 $^{\circ}$ C Elution Buffer 至柱子膜中央。**放置 2 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。
10. **再加入 15-30 μ l 预热至 55 $^{\circ}$ C Elution Buffer 至柱子膜中央。**放置 2 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 丢去柱子，把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

2. HiPure Nucleotide Removal Kit 提取方案(D2142)

该方案采用硅胶柱纯化方式，适合于从酶促反应物中纯化和回收 DNA，并高效去除小于 17bp 寡聚核苷酸和核苷酸等。以下离心都必须在室温下进行。

1. 用移液枪测量样品体积，并转移至灭菌的 1.5ml 离心管中。
2. **加入 10 倍体积的 Buffer NP 至样品中。**涡旋混匀 30 秒。
3. 短暂离心收集管壁上的液滴。按离心方案或负压抽滤进行操作。

离心方案

4. 将 HiPure DNA 柱子套在收集管中。**把混合液(第 3 步获得的)转移至柱子中。**8,000 × g 离心 30-60 秒。
混合液超过 600µl 时，一次最多转移 600µl 至柱子中，多余的按第 5 步分次加入。
5. (可选：混合液>600µl) 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。把剩余的混合液转移至柱子中。8,000 × g 离心 30-60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 500µl Buffer DW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。**8,000 × g 离心 30-60 秒。
注：使用 Buffer DW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
7. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 500µl Buffer DW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。**8,000 × g 离心 30-60 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。12,000 × g 离心 2 分钟。
9. **把柱子套在 1.5ml 离心管中，加入 10-30µl Elution Buffer 至柱子膜中央。**放置 2 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。若需要获得最高产量，建议重复第 9 步进行第二步洗脱。
10. 丢去柱子，把 DNA 保存于-20℃。

负压抽滤方案

4. 连接好真空泵和抽滤盒，把柱子插到抽滤盒的接口处。

5. **转移第四步混合液至柱子中。**打开真空泵进行抽滤，若混合液超过 700 μ l，分次转入柱子中，至全部混合液都转移至柱子中过滤。
6. 溶液过滤完毕后，**加入 500 μ l Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。**
注：使用 Buffer DW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
7. 溶液过滤完毕后，**加入 500 μ l Buffer DW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。**溶液过滤完毕后，关闭真空泵。
8. 取下柱子，并套在收集管中。12,000 \times g 离心 2 分钟。
9. **把柱子套在 1.5ml 离心管中，加入 10-30 μ l Elution Buffer 至柱子膜中央。**放置 2 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。若需要获得最高产量，建议重复第 9 步进行第二步洗脱。
10. 丢去柱子，把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

3. HiPure Oligo Pure Kit 提取方案(D2143)

该方案采用硅胶柱纯化方式，适合于从酶促反应物中纯化和回收 DNA，并高效去除小于 17bp 寡聚核苷酸和核苷酸等。以下离心都必须在室温下进行。

1. 用移液枪测量样品体积，并转移至灭菌的 1.5ml 离心管中。用 Nuclease Free Water 调整总体积为 100 μ l。
2. **加入 100 μ l OP 至样品中。**涡旋混匀 15 秒。
3. 再加入 400 μ l 无水乙醇至样品中，涡旋混匀 15 秒。
4. 短暂离心收集管壁上的液滴。按离心方案或负压抽滤进行操作。

离心方案

5. 将 HiPure RNA 柱子套在收集管中。**把混合液(第 4 步获得的)转移至柱子中。**8,000 \times g 离心 30-60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 600 μ l Buffer RW2 (已用无水乙醇稀释)至柱子中。**8,000 \times g 离心 30-60 秒。
注：使用 Buffer RW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
7. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 600 μ l Buffer RW2 (已用无水乙醇稀释)至柱子中。**8,000 \times g 离心 30-60 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。13,000 \times g 离心 3 分钟。
9. 把柱子套在 1.5ml 离心管中。**加入 10-30 μ l Nuclease Free Water 至柱子膜中央。**放置 2 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。若需要获得最高产量，建议重复第 9 步进行第二步洗脱。
10. 丢去柱子，把 Oligo 保存于-20 $^{\circ}$ C。

负压抽滤方案

4. 连接好真空泵和抽滤盒，把柱子插到抽滤盒的接口处。
5. **转移第四步混合液至柱子中。**打开真空泵进行抽滤。

6. 溶液过滤完毕后，加入 700 μ l Buffer RW2（无水乙醇稀释）至柱子中。
注：使用 Buffer RW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
7. 溶液过滤完毕后，加入 700 μ l Buffer RW2（无水乙醇稀释）至柱子中。溶液过滤完毕后，关闭真空泵。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。13,000 \times g 离心 3 分钟。
9. 把柱子套在 1.5ml 离心管中。加入 10-30 μ l Nuclease Free Water 至柱子膜中央。放置 2 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。若需要获得最高产量，建议重复第 9 步进行第二步洗脱。
10. 丢去柱子，把 Oligo 保存于-20 $^{\circ}$ C。

4. HiPure RNA Clean Up Kit 提取方案(R2144)

该方案采用硅胶柱纯化方案，适合于从 RNA 酶促反应液，如体外转录，DNase I 消化液以及粗制的 RNA 样品中，如 Trizol 抽提的 RNA 中进一步纯化回收 RNA。以下离心都必须在室温下进行。

1. 短暂离心 RNA 产物或反应液。用移液枪测量其体积。用 DEPC 水调整样品体积至 100 μ l (RNA 用量不要超过 50 μ g)。
2. **加入 300 μ l Buffer RP，涡旋混匀 10 秒，室温静置 5 分钟。**
3. 加入 250 μ l 无水乙醇，涡旋混匀 15 秒。
注：若需回收小分子 RNA(<200nt)，加入 600 μ l 无水乙醇。
4. 短暂离心收集管壁上的液滴。
5. 将 HiPure RNA 柱子套在收集管中。**把混合液(第 4 步获得的)转移至柱子中。**8,000 \times g 离心 30-60 秒。
注：混合液超过 700 μ l 时，一次最多转移 700 μ l 至柱子中，多余的按第 6 步分次加入。
6. (可选：混合液>700 μ l) 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。把剩余的混合液转移至柱子中。8,000 \times g 离心 30-60 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 600 μ l Buffer RW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。**8,000 \times g 离心 30-60 秒。
使用 Buffer RW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 600 μ l Buffer RW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。**8,000 \times g 离心 30-60 秒。
9. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。13,000 \times g 离心 2 分钟。
10. **把柱子套在 1.5ml 离心管中，加入 10-30 μ l DEPC 水至柱子膜中央。**放置 2 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。若需要获得最高产量，建议重复第 10 步进行第二步洗脱。
11. 丢去柱子，把 RNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

常见问题回答

该列表可能有利于解决提取过程所碰到的问题。Magen 的技术人员也可以随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽能力为您排忧解难。

现象	原因及解决方法
回收效率低	
结合液加入量不够	正确测量样品的体积，然后根据加入适量结合液
洗脱液体积太小	增加洗脱液体积或增加洗脱次数
洗脱液没有加入膜中央	洗脱时，必须把洗脱液加到柱子的滤膜正中央。
Buffer DW2/RW2 没有用乙醇进行稀释	Buffer DW2/RW2 使用前必须用无水乙醇进行稀释
下游应用不理想	
盐污染	加入 Buffer DW2/RW2 至柱子后，静置 5 分钟后再离心
乙醇污染	Buffer DW2/RW2 最后一步洗涤时，离心时间不能减少。 55°C 烘箱干燥进一步去除乙醇

若以上的解答还是无法解决您的问题，请您联系我们。