D3892 Viral DNA Kit

简易中文步骤

√实验前请按说明书正确配制和保存

➢ 使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
D3892-00	20mL
D3892-01	80mL
D3892-02	80mL（每瓶）

提取步骤：

注意：以下步骤已经过优化，适用于体积为 1-250μl 的新鲜或冻存的血浆或血清样品。 也可以使用其他无细胞样品。对于从血液中提取 DNA，我们建议使用 E.Z.N.A.® Blood DNA Kit（产品编号 D3392）。为了从血清或其他非细胞体液中分离病毒 RNA，可使用 E.Z.N.A.® Viral RNA Kit。

将样品和 OB Protease solution 解冻至室温。在 65℃下预热等份的 Elution Buffer（每个样品约 0.5mL）。所有离心步骤均在室温下进行。

A. 离心操作方案

1. 将≤250μl 的样品溶液转移到离心管中。如样品体积不足 250μl，需加入 10mM Tris-HCl、PBS 或 Elution Buffer 把体积补足；
2. 加入 10μl OB Protease 和 250μl Buffer BL，加入前在 Buffer BL 中添加 4μl Linear Acrylamide，涡旋混匀 15s，如果要求提到无 RNA 污染的 DNA，可在此步骤向每个样品加 2μl RNase A（50mg/mL）；
3. 在 65℃孵育 10min，期间取出涡旋混匀一次；
4. 加入 260μl 无水乙醇，最大速度涡旋混匀 20s，简单离心将管盖的溶液甩下；
5. 将 HiBind® DNA Mini column 套入到 2mL 收集管中，转移步骤 4 中的裂解液到 HiBind® DNA Mini column 中，8,000xg 离心 1min，弃滤液；
6. 将 HiBind® DNA Mini column 套入到新的 2mL 收集管中，加入 500μl Buffer HB，8,000xg 离心 1min，弃滤液；
7. 将 HiBind® DNA Mini column 套回到 2mL 收集管中，加入 700μl DNA Wash Buffer，8,000xg 离心 1min，弃滤液；

   Note：DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。
8. 将 HiBind® DNA Mini column 套入到新的 2mL 收集管中，再加 700μl DNA Wash Buffer 进行二次洗涤，8,000xg 离心 1min，弃滤液；

9. 将 HiBind® DNA Mini column 套回到 2mL 收集管中，最大速度（15,000xg）空柱子离心 2min，此步骤对于确保后续步骤中最佳洗脱状态至关重要；

10. 将 HiBind® DNA Mini column 套入到新的 1.5mL 离心管中，加入 50-100μl 65℃预热的 Elution Buffer，室温静置 5min，8,000xg 离心 1min 洗脱 DNA；

11. 将 HiBind® DNA Mini column 套入到另一新的 1.5mL 离心管中，按照步骤 10 进行第二次洗脱 DNA，将洗脱的 DNA 保存于-20℃。

Note：每次可以洗脱 DNA 的产量为 60%-70%，两次洗脱产量 > 90%。但是，增加洗脱体积会降低洗脱浓度。为保持较高浓度的 DNA，可将 Elution Buffer 的体积调整至 15-50μl，但低于 15μl 洗脱会严重降低产量，可采用第一次洗脱出的 Elution Buffer 再次加回到柱子中进行二次洗脱。

如果需要，可以浓缩 DNA，加入氯化钠至终浓度为 0.1M，然后加入 2 倍体积的无水乙醇，充分混匀后，在-20℃孵育 10min，10,000xg 离心 15min，丢弃上清液，保留沉淀物。加入 700μl 的 80%乙醇，10,000xg 离心 2min，漂洗沉淀物，弃上清。空气干燥沉淀物 2min，用 20μl 的去离子水或 10mM Tris-HCl（pH8）溶解重悬 DNA 沉淀。

B. 真空抽提方案

1. 按照 A 离心方案中的步骤 1-4 进行；

2. 将 HiBind® DNA Mini column 与真空抽滤装置连接，小心将裂解液转移到柱子中，打开真空抽滤装置，让裂解液全部抽滤过柱，关闭真空抽滤装置；

Note：如果裂解液很难通过柱子，可将柱子放入到收集管中，盖上盖子，在 8,000xg 离心 5min，直至所有裂解液转移过柱，再将柱子套回到收集管中，接下来从离心方案步骤 6 进行纯化。

3. 加入 500μl Buffer HB 到柱子中，打开真空抽滤装置，待溶液全部通过柱子，关闭真空抽滤装置；

4. 加入 750μl DNA Wash Buffer（已加无水乙醇稀释）到柱子中，打开真空抽滤装置，待溶液全部通过柱子，关闭真空抽滤装置；

5. 将 HiBind® DNA Mini column 的盖子盖上，从真空抽滤装置取出，将 HiBind® DNA Mini column 套入到 2mL 收集管中，15,000xg 离心 2min 干燥柱子；

6. 按照 A 离心方案中的步骤 10-11 洗脱 DNA。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准

中国区总代理:广州飞扬生物工程有限公司 | 技术支持 020-32051125 | QQ:800848200 | omegabiotek.com.cn