

目 录

简介/原理-----	2
组成/保质期-----	3
准备工作-----	4
方案 1: 固体组织 DNA 提取-----	5
方案 2: 血液 DNA 提取-----	6
方案 3: 唾液 DNA 的提取-----	7
方案 4: 细胞 DNA 提取-----	8
方案 5: 精液 DNA 提取-----	9
方案 6: 拭子 DNA 的提取-----	10
方案 7: 精斑/血斑 DNA 提取-----	11
方案 8: 头发/指甲 DNA 提取-----	12
方案 9: 口香糖 DNA 的提取-----	13
方案 10: 烟蒂样品 DNA 提取-----	14
方案 11: 纸质材料 DNA 提取-----	15
方案 12: 激光显微切割样品 DNA 的提取-----	16
方案 13: 骨头/牙齿 DNA 提取-----	17
方案 14: 性侵犯样品 DNA 提取-----	18
方案 15: 寄生微生物 DNA 的提取-----	19
常见问题回答-----	20

版本: 202401

简介

HiPure Forensic DNA Kit 是专门为法医样品的 DNA 提取而设计。本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，整个提取过程只需 30 分钟。得到的 DNA 可直接用于 PCR，病毒检测等实验。

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。

HiPure Forensic DNA Kit 基于硅胶柱纯化方式。样品在裂解液和蛋白酶作用下裂解消化，DNA 释放到裂解液中。加入乙醇后，转移至柱子中过滤，DNA 被吸附上柱子的膜上，而蛋白质则不被吸附而去除。柱子经 Buffer GW1 洗涤蛋白质和其它杂质，经 Buffer GW2 洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液(10Mm Tris, pH8.5)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、Southern blot、病毒检测等实验。

组 成

HiPure Forensic DNA Kit

产 品 编 号	D3130-01	D3130-02	D3130-02B
纯化次数	10 次	50 次	50 次
HiPure DNA Micro Columns	10	50	50
2ml Collection Tubes	20	100	100
Buffer ATL	10 ml	30 ml	30 ml
Buffer ACL	10 ml	30 ml	30 ml
Buffer GW1	13 ml	13 ml	13 ml
Buffer GW2	10 ml	20 ml	20 ml
Carrier RNA	310 µg	310 µg	310 µg
Proteinase K	12 mg	30 mg	30 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	1.8 ml	1.8 ml
Buffer AE	5 ml	20 ml	20 ml
2ml Bead Tubes	-	-	50 支
说明书	1	1	1

保 质 期

HiPure Forensic DNA Kit 除 Proteinase K 干粉，其它组份可在室温下(15-25℃)干燥保存 12 个月。低温下，Buffer ATL 可能会有沉淀形成，需 37℃ 水浴让沉淀完全溶解。Proteinase K 干粉室温运输，收到试剂盒后请保存于-20℃。

需要准备材料和工具

- 无水乙醇(96-100%)
- 55°C和 65°C的水浴锅
- 溶解Proteinase K (20mg/ml): 加入Protease Dissolve Buffer溶解Proteinase K至终浓度为20mg/ml。Proteinase K干粉在 2-8°C保存一年, 但溶解的Proteinase K须分装保存于-20°C。
- 溶解 Carrier RNA(1µg/µl): 加入适量的 Buffer AE 至 Carrier RNA。涡旋溶解, 保存于-20°C。
- Buffer GW1 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer GW2 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

方案 1. 固体组织 DNA 提取

该方案适合于从 1~10mg 固体组织中提取 DNA，包括基因组 DNA，线粒体 DNA 以及病毒 DNA。

1. 把 1~10mg 组织样品剪成尽量小的碎片，转移至 1.5ml 离心管中。
2. 加入 200 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K，56 $^{\circ}$ C 振荡温浴 30~60 分钟。
3. 加入 200 μ l Buffer ACL 和 3 μ l Carrier RNA 至样品中，涡旋混匀 10 秒。
若组织用量超过 1mg 时，可以不加入 Carrier RNA。
4. 加入 200 μ l 无水乙醇至样品中，涡旋混匀 10 秒。
5. 把 HiPure DNA Micro Column 装在 2ml 收集管中，转移全部混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
6. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g 离心 3 分钟。
10. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 20~50 μ l 预热至 56 $^{\circ}$ C Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C。

方案 2. 血液样品 DNA 提取

该方案适合于从 $\leq 100\mu\text{l}$ 抗凝血液中提取DNA。

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 20 μl Proteinase K 和 100 μl 抗凝血液、血浆、血水等样品至装有 Proteinase K 管子中。若样品不足 100 μl ，用灭菌水补足。
2. 加入 100 μl Buffer ACL 和 3 μl Carrier RNA 至样品中，涡旋混匀 10 秒。56 $^{\circ}\text{C}$ 振荡温浴 15 分钟。
若血液用量超过 50 μl ，可以不加入 Carrier RNA。
3. 加入 100 μl 无水乙醇至样品中，高速涡旋 10 秒。
4. 把 HiPure DNA Micro Column 装在 2ml 收集管中，转移混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
5. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μl Buffer GW1 (已用乙醇稀释) 至柱子上。10,000 \times g 离心 1 分钟。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer GW2 (已用乙醇稀释) 至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer GW2 (已用乙醇稀释) 至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g 离心 3 分钟。
9. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 20~50 μl 预热至 56 $^{\circ}\text{C}$ Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g 离心 1 分钟。
10. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 或 -80 $^{\circ}\text{C}$ 。

方案 3. 唾液样品 DNA 提取

该方案适合于从 $\leq 200\mu\text{l}$ 唾液、血清、血浆等样品中提取DNA。

1. 在 2ml 离心管中，加入 20 μl Proteinase K和 200 μl 唾液、分泌液、体液等样品。
若样品不足 200 μl ，用灭菌水补足。
2. 加入 200 μl Buffer ACL和 3 μl Carrier RNA至样品中，高速涡旋 10 秒。56 $^{\circ}\text{C}$ 振荡温浴 15 分钟。
3. 加入 200 μl 无水乙醇至样品中，高速涡旋 10 秒。
4. 把HiPure DNA Micro Column装在 2ml收集管中，转移一半体积的混合液至柱子中。
10,000 \times g离心 1 分钟。
5. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μl Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g离心 1 分钟。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。
10,000 \times g离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。
10,000 \times g离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g离心 3 分钟。
9. 将柱子装在新的 1.5ml离心管中。加入 30~100 μl 预热至 56 $^{\circ}\text{C}$ Buffer AE至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g离心 1 分钟。
10. 丢弃DNA结合柱，把DNA保存于-20 $^{\circ}\text{C}$ 或-80 $^{\circ}\text{C}$ 。

方案 4. 细胞 DNA 提取

该方案适合于从培养细胞提取DNA。

1. 计算细胞数量。1,000 × g离心 5 分钟收集细胞 ($< 2 \times 10^6$)，小心吸弃培养液。
2. 加入 200µl Buffer PBS和 20µl Proteinase K至样品中，涡旋 10 秒打散细胞。
若细胞数量用量低于于 10^5 ，推荐加入 3µl Carrier RNA至样品中。
3. 加入 200µl Buffer ACL和 3µl Carrier RNA至样品中，高速涡旋 15 秒。56°C温浴 15 分钟。
4. 加入 200µl无水乙醇，高速涡旋 10 秒。
5. 把HiPure DNA Micro Column装在 2ml收集管中,转移一半体积的混合液至柱子中。
10,000 × g离心 1 分钟。
6. 把柱子装在新的收集管中。加入 500µl Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 × g离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500µl Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。
10,000 × g离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500µl Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。
10,000 × g离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 × g离心 3 分钟。
10. 将柱子装在新的 1.5ml离心管中。加入 30~100µl预热至 56°C Buffer AE至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 × g离心 1 分钟。
11. 丢弃DNA结合柱，把DNA保存于-20°C或-80°C。

方案 5. 精液样品 DNA 提取

该方案适合于从精液样品中提取DNA。

1. 涡旋打散精液样品，转移 150 μ l精液至 1.5ml离心管中。
2. 加入 100 μ l Buffer ATL、10 μ l DTT(1M)和 20 μ l Proteinase K至样品中。56 $^{\circ}$ C振荡温浴 30 分钟。
3. 加入 250 μ l Buffer ACL和 3 μ l Carrier RNA至重悬液中，涡旋混匀 10 秒。
若体液用量低于于 50 μ l，推荐加入 3 μ l Carrier RNA至样品中。
4. 加入 250 μ l无水乙醇，涡旋混匀 10 秒。
5. 把HiPure DNA Micro Column装在 2ml收集管中,转移混合液至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
6. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g离心 3 分钟。
10. 将柱子装在新的 1.5ml离心管中。加入 30~100 μ l预热至 56 $^{\circ}$ C Buffer AE至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g离心 1 分钟。
11. 丢弃DNA结合柱，把DNA保存于-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C。

方案 6. 拭子样品 DNA 提取

该方案适合于从拭子样品中提取DNA。

1. 把拭子转移至 2ml 离心管中。加入 400 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K，涡旋混匀。56 $^{\circ}$ C 振荡温浴 1 小时。
2. 加入 400 μ l Buffer ACL 和 3 μ l Carrier RNA，涡旋 15 秒。
3. 加入 400 μ l 无水乙醇，涡旋 10 秒。
4. 把 HiPure DNA Micro Column 装在 2ml 收集管中，转移一半体积混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移余下混合液至柱子中，10,000 \times g 离心 1 分钟。
6. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g 离心 3 分钟。
10. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~100 μ l 预热至 56 $^{\circ}$ C Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C。

方案 7. 血斑/精斑样品 DNA 提取

该方案适合于从血斑/精斑样品中提取 DNA。

1. 用打孔器从干血片中切出 1~3 片直径为 3mm 的带血圆片，并转移至 2.0ml 离心管中。
2. 加入 250 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K 至样品中。55 $^{\circ}$ C 振荡温浴 60 分钟。(处理精斑时，再加入 10 μ l 1M DTT)。
3. 加入 250 μ l Buffer ACL 和 3 μ l Carrier RNA 至样品中，55 $^{\circ}$ C 高速振荡温浴 10 分钟。
若血斑只有 1 个片时，推荐加入 3 μ l Carrier RNA 至样品中。
4. 10,000 \times g 离心 1 分钟收集管壁上的液滴，把所有的裂解液都转移至 1.5ml 离心管。
5. 加入 150 μ l 无水乙醇至裂解液中，涡旋混匀 10 秒。
6. 把 HiPure DNA Micro Column 装在 2ml 收集管中，转移混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
7. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g 离心 3 分钟。
11. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~100 μ l 预热至 56 $^{\circ}$ C Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g 离心 1 分钟。
12. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C。

方案 8. 头发/指甲样品 DNA 提取

该方案适合于从头发/指甲样品中提取DNA。

1. 把头发、指甲等样品剪碎成小块，转移至 2.0ml 离心管中。
2. 加入 250 μ l Buffer ATL、20 μ l Proteinase K 和 10 μ l 1M DTT 至样品中，56°C 振荡温浴 1~3 小时。
3. 10,000 \times g 离心 3 分钟。转移上清液至新的离心管中。
4. 加入 250 μ l Buffer ACL 和 3 μ l Carrier RNA 至样品中，涡旋混匀 10 秒。
5. 和 150 μ l 异丙醇至裂解液中，涡旋混匀 10 秒。
6. 把 HiPure DNA Micro Column 装在 2ml 收集管中，转移混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
7. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1 (已用乙醇稀释) 至柱子上。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2 (已用乙醇稀释) 至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2 (已用乙醇稀释) 至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g 离心 3 分钟。
11. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~100 μ l 预热至 56°C Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g 离心 1 分钟。
12. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20°C 或 -80°C。

方案 9. 口香糖 DNA 提取

该方案适合于从口香糖样品中提取总DNA。

1. 把 $\leq 30\text{mg}$ 口香糖切成小块，转移至 2ml离心管中。
2. 加入 300 μl Buffer ATL和 20 μl Proteinase K, 56°C振荡温浴 3~6 小时。
3. 加入 300 μl Buffer ACL和 3 μl Carrier RNA至样品中, 60°C振荡温浴 1 小时。
4. 加入 150 μl 异丙醇至样品, 涡旋 10 秒。
5. 把HiPure DNA Micro Column装在 2ml收集管中,转移混合液至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
6. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μl Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。10,000 \times g离心 3 分钟。
10. 将柱子装在新的 1.5ml离心管中。加入 30~100 μl 预热至 56°C Buffer AE至柱子的膜中央。放置 3 分钟, 10,000 \times g离心 1 分钟。
11. 丢弃DNA结合柱, 把DNA保存于-20°C或-80°C。

方案 10. 烟蒂 DNA 提取

该方案适合于从香烟/过滤嘴等烟蒂中提取总DNA。

1. 从香烟或过滤嘴的末端切下 1cm² 外层纸，切成 6 小块，转移至 2ml 离心管中。
2. 加入 300 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K，涡旋混匀。56 $^{\circ}$ C 振荡温浴 1 小时。
3. 加入 300 μ l Buffer ACL 和 3 μ l Carrier RNA 至样品中，涡旋 10 秒。
4. 加入 150 μ l 异丙醇，涡旋 10 秒。
5. 把 HiPure DNA Micro Column 装在 2ml 收集管中，转移混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
6. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1 (已用乙醇稀释) 至柱子上。10,000 \times g 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2 (已用乙醇稀释) 至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2 (已用乙醇稀释) 至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g 离心 3 分钟。
10. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~100 μ l 预热至 56 $^{\circ}$ C Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C。

方案 11. 纸质材料中 DNA 提取

该方案适合于书皮，报纸等纸质材料中提取总DNA。

1. 从纸质材料上切下 0.5-2.5cm² 外层纸，切成小块，转移至 2ml 离心管中。
2. 加入 250 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K，涡旋混匀。56 $^{\circ}$ C 振荡温浴，1 小时。
3. 加入 250 μ l Buffer ACL 和 3 μ l Carrier RNA，涡旋 10 秒。
4. 加入 250 μ l 无水乙醇，涡旋 10 秒。
5. 把 HiPure DNA Micro Column 装在 2ml 收集管中，转移混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
6. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g 离心 3 分钟。
10. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~100 μ l 预热至 56 $^{\circ}$ C Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C。

方案 12. 激光显微切割标本 DNA 提取

该方案适合于从激光显微切割标本中提取总DNA。

1. 把激光显微切割标本转移至 2ml离心管中。
2. 加入 50 μ l Buffer ATL和 10 μ l Proteinase K, 涡旋混匀。56 $^{\circ}$ C振荡温浴 1 小时。
福尔马林固定需 24 小时。
3. 加入 50 μ l Buffer ACL和 3 μ l Carrier RNA, 涡旋 10 秒。
4. 加入 50 μ l 无水乙醇, 涡旋 10 秒。
5. 把HiPure DNA Micro Column装在 2ml收集管中,转移混合液至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
6. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。10,000 \times g离心 3 分钟。
10. 将柱子装在新的 1.5ml离心管中。加入 30~100 μ l预热至 56 $^{\circ}$ C Buffer AE至柱子的膜中央。放置 3 分钟, 10,000 \times g离心 1 分钟。
11. 丢弃DNA结合柱, 把DNA保存于-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C。

方案 13. 骨头/牙齿 DNA 提取

该方案适合于从骨头/牙齿等样品中提取总DNA。

1. 将骨头和牙齿碾成小碎片或碎末，转移 $\leq 100\text{mg}$ 粉末至 2ml 离心管中。
2. 加入 300 μl Buffer ATL, 10 μl 1M DTT, 20 μl Proteinase K, 涡旋混匀。56 $^{\circ}\text{C}$ 振荡温浴 3 小时或过夜。
3. 加入 300 μl Buffer ACL, 涡旋 10 秒。
4. 10,000 \times g 离心 5 分钟，转移上清液至新的离心管中。
5. 加入 150 μl 无水乙醇，涡旋 15 秒。
6. 把 HiPure DNA Micro Column 装在 2ml 收集管中，转移混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
7. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μl Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g 离心 3 分钟。
11. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~100 μl 预热至 56 $^{\circ}\text{C}$ Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g 离心 1 分钟。
12. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 或 -80 $^{\circ}\text{C}$ 。

方案 14. 性侵犯标本 DNA 提取

该方案适合于从拭子、织物等性侵犯样品中提取总DNA。

1. 将拭子或织物剪碎，转移至 2ml 离心管中，加入 500 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K，涡旋混匀。56 $^{\circ}$ C 振荡温浴 1~3h，用镊子去除固体材料。
2. 全速离心 5 分钟，小心移除液体，仅保留最底部的 30 μ l。
若获得上皮细胞的DNA(女性): 转移 300 μ l 上清液至新管中，按第 9 步进行抽提DNA。
3. 加入 500 μ l Buffer ATL，涡旋 10 秒重悬沉淀。全速离心 5min，吸弃上清，保留下层 30 μ l 残液和沉淀，不要搅动沉淀。
4. 重复第 3 步三次。
5. 在沉淀中加入 200 μ l Buffer ATL、10 μ l Proteinase K 和 10 μ l DTT，涡旋，56 $^{\circ}$ C 振荡温浴 1 小时。
6. 加入 200 μ l Buffer ACL 和 250 μ l 无水乙醇，涡旋 15 秒。
7. 把 HiPure DNA Mini Column II 装在 2ml 收集管中。转移 600 μ l 混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移剩余混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。弃去滤液和收集管。
9. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 650 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 650 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g 离心 1 分钟。
12. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g 离心 3 分钟。
13. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~100 μ l 预热至 56 $^{\circ}$ C Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g 离心 1 分钟。丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C。

方案 15. 寄生微生物 DNA 提取

该方案适合于从肝脏、脾脏等组织中提取寄生微生物总DNA

1. 用取 0.5~1g组织样品，加入 5~10ml Buffer ATL，用玻璃匀浆器充分匀浆。
2. 加入 50 μ l Proteinase K至匀浆液中，56 $^{\circ}$ C消化 30 分钟。10,000 \times g离心 10 分钟收集沉淀(含微生物细胞)，小心吸弃上清液。
3. 加入 500 μ l Buffer ATL，涡旋 10 秒重悬沉淀。全速离心 5min，吸弃上清，保留下层 50 μ l 残液和沉淀，不要搅动沉淀。
4. 加入 400 μ l Buffer ATL和 10 μ l Proteinase K，涡旋重悬样品。转移全部消化液至 2ml Bead Tubes中，高速涡旋混匀 10 分钟。
5. 10,000 \times g离心 5 分钟，转移 300 μ l 上清液至新的离心管中。
6. 加入 300 μ l Buffer ACL和 150 μ l异丙醇至样品中，涡旋混匀。
7. 把HiPure DNA Mini Column II装在 2ml收集管中。转移<750 μ l混合液至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移剩余混合液至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。弃去滤液和收集管。
9. 把柱子装在新的收集管中。加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 \times g离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 650 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
11. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 650 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中。10,000 \times g离心 1 分钟。
12. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。10,000 \times g离心 3 分钟。
13. 将柱子装在新的 1.5ml离心管中。加入 30~100 μ l预热至 56 $^{\circ}$ C Buffer AE至柱子的膜中央。放置 3 分钟，10,000 \times g离心 1 分钟。丢弃DNA结合柱，把DNA保存于-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C。

常见问题解答

该列表可能有利于您解决在提取过程中所碰到的问题。此外，Magen 的技术人员也可以随时为您提供咨询服务，若您对试剂盒存在疑问或有良好的建议，又或者您在分子生物学实验中碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽所能为您排忧解难。

现象	原因及解决方法
柱子堵塞	
样品不充分打散或匀浆	<ul style="list-style-type: none"> ● 参照样品的打散及匀浆，提高样品的裂解效果； ● 提高离心速度和时间； ● 减少样品的用量或增加裂解液 RTL 的用量和延长匀浆时间；
样品起始用量太多	减少样品用量。正确的样品用量是获得理想结果的必要条件；
裂解液加入乙醇之前，需要离心	裂解液在加入乙醇之前需要离心去除不溶的杂质。沉淀中含有细胞碎片会引起柱子的堵塞。处理某些组织样品时，离心后裂解液表面还可能会有一层脂类层，转移上清液尽量不要吸到这些物质。
低温离心	试剂盒中除特别指明，所有的离心操作都必须在室温（20-25℃）。离心条件低于 20℃ 时，可能会导致沉淀的形成而引起柱子堵塞。设定离心机的温度为（20-25℃）。上柱时，把裂解液和乙醇混合液放置于 37℃ 水浴有利于减少堵塞现象。
下游实验结果不理想	
盐分污染	加入 Buffer GW2 后，静置 5 分钟后，再离心
乙醇污染	确保空柱离心速度高于或等于 12,000xg，离心时间为 2 分钟。
膜材料脱落	硅胶膜在离心过程中可能会发生脱落。脱落到质粒中硅胶膜是不溶解的，可能过 12,000xg 离心 2 分钟去除。