

## HiPure Blood DNA 96 Kit

### 96 孔板血液 DNA 提取试剂盒

本产品适合于高通量地从 96 个 200 $\mu$ l 抗凝血液，血清，血浆、牛奶、唾液、或其它液体样品中快速提取总 DNA。试剂盒对全血或液体样品直接裂解和消化，纯化的 DNA 包括基因组 DNA，线粒体 DNA，病毒 DNA(如乙肝)，或其它寄生微生物的 DNA。得到的 DNA 可直接用于 PCR，Southern Blot，病毒 DNA 检测等实验。

### 产品组份

产品编号	D3117-01	D3117-02	D3117-03
纯化次数	1 x 96	4 x 96	20 x 96
HiPure gDNA Plate	1	4	20
1.6ml Collection Plate	1	4	20
0.5ml Collection Plate	1	4	20
封口膜	5 版	20 片	100 片
Buffer AL	30 ml	100 ml	500 ml
Buffer DW1	80 ml	300 ml	3 x 500 ml
Buffer GW2*	50 ml	2 x 100 ml	4 x 200 ml
Proteinase K	45 mg	180 mg	900 mg
Protease Dissolve Buffer	3 ml	12 ml	60 ml
Buffer AE	30 ml	120 ml	500 ml
说明书	1	1	1

Buffer AE 成分：10mM Tris, 0.5mM EDTA, pH9.0

## 保存条件

本产品室温(15~25℃)可保存 18 个月。Proteinase K 干粉室温运输和保存，长期保存(>6 个月)建议保存于-20~8℃。

## 准备事项

- 无水乙醇(96-100%)
- 70℃水浴锅或振荡金属浴
- 溶解 Proteinase K (20mg/ml): 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 溶解 Proteinase K 至终浓度为 20mg/ml，轻轻颠倒让蛋白酶 K 充分溶解。Proteinase K 干粉可在室温下保存一年，但溶解的 Proteinase K 须分装保存于-20~8℃。
- Buffer DW2 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。
- 96 孔板离心机(>3,000 × g)

## 实验步骤：血液和体液 DNA 高通量提取

该方案能高通量从 96 个 ≤200μl 抗凝血液，血清，血浆或其它液体样品中直接提取总 DNA。该方案直接对样品进行裂解消化，获得的 DNA，包括了基因组 DNA(如淋巴细胞)，线粒体 DNA，携带的病毒 DNA(如乙肝)，以及各种寄生微生物的 DNA。

1. 在 2.2ml 深孔板(自备)中，加入 20μl Proteinase K 至每一个孔中。
2. 转移 200μl 抗凝血液、白膜层、血清、血浆、牛奶或其它液体样品至装有蛋白酶 K 的孔中，振荡混匀 5 秒。若样品体积 <200μl，用 PBS 或 Buffer AE 调整总体积至 200μl。  
由于鸟类，鱼类等非哺乳类动物的血液红细胞是带核的，其 DNA 含量极为丰富。一次只能处理 5-10μl 血液，用 Buffer PBS 或 Buffer AE 调整总体积至 200μl。
3. 加入 200μl Buffer AL 至每一个孔中，贴上封口膜，1000~1500rpm 振荡混匀 2 分钟，70℃烘箱或水浴锅中放置 10~15 分钟，其间振荡混匀 1 次。

以下 96 孔板振荡混匀，推荐使用 IKA MS3 的 96 孔板涡旋仪或其它类似的 96 孔板涡旋仪。

为防止加热蒸发，可以贴上封口膜。

4. 短暂离心收集液滴，去除封口膜。
5. 加入 200 $\mu$ l 无水乙醇至每一个孔中，贴上封口膜，900~1200rpm 振荡混匀 3 分钟。短暂离心收集孔口的液滴，去除封口膜。  
调整好这一步的混匀速度，以防止溶液在涡旋时溢出，但又能让溶液充分混匀。若无 96 孔涡旋仪，可以用移液枪吸打混匀几次。
6. 把 DNA 结合板装在 1.6ml 收集板中，转移第 5 步混合液至 DNA 结合板中，3,000~5,000  $\times$  g 离心 5 分钟。
7. 倒弃流出液，把结合板装回收集板中。加入 600 $\mu$ l Buffer DW1 至柱子上。3,000~5,000  $\times$  g 离心 5 分钟。
8. 倒弃流出液，把结合板重新装回收集板中。加入 600 $\mu$ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中，3,000~5,000  $\times$  g 离心 5 分钟。  
Buffer GW2 在使用之前，必须用无水乙醇进行稀释。按瓶子标签指示进行稀释。
9. 倒弃流出液，把结合板重新装回收集板中。加入 600 $\mu$ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中，3,000~5,000  $\times$  g 离心 5 分钟。
10. 倒弃流出液，把结合板重新装回收集板中。3,000~5,000  $\times$  g 离心 10 分钟甩干基质。
11. 取下 96 孔板，室温放置 10 分钟进一步干燥柱子的基质。
12. 将结合板转移至 0.5ml 收集板中。加入 75~100 $\mu$ l 预热至 70 $^{\circ}$ C Buffer AE 至膜中央，室温放置 3 分钟，3,000~5,000  $\times$  g 离心 5 分钟。
13. 再加入 50 $\mu$ l 预热至 70 $^{\circ}$ C Buffer AE 至膜中央，室温放置 3 分钟，3,000~5,000  $\times$  g 离心 5 分钟。
14. 丢弃结合板。贴上封口膜，把 DNA 保存 2-8 $^{\circ}$ C，长期保存需保存于-20 $^{\circ}$ C。

## 附加流程: 0.5ml 血液 DNA 高通量提取(D3117)

该方案能高通量从 96 个  $\leq 500\mu\text{l}$  抗凝血液样品中提取淋巴细胞 DNA, 该方案需另外订购 Buffer NL。

1. 在 2.2ml 96 孔板中, 每孔加入 1ml Buffer LB1, 然后加入不超过 500 $\mu\text{l}$  抗凝血液, 贴上封口膜, 颠倒混匀 5 次。
2. 2,000 x g 离心 10 分钟, 小心倒弃上清液, 反扣于吸水纸 1 分钟以吸尽残液。
3. 加入 220 $\mu\text{l}$  灭菌水和 20 $\mu\text{l}$  Proteinase K 至每一个孔中, 1200rpm 剧烈振荡混匀 1 分钟重悬细胞核。
4. 加入 250 $\mu\text{l}$  Buffer AL 至每一个孔中, 贴上封口膜, 1000~1500rpm 振荡混匀 2 分钟, 70 $^{\circ}\text{C}$  烘箱或水浴锅中放置 10~15 分钟, 其间振荡混匀 1 次。  
以下 96 孔板振荡混匀, 推荐使用 IKA MS3 的 96 孔板涡旋仪或其它类似的 96 孔板涡旋仪。为防止加热蒸发, 可以贴上封口膜。
5. 短暂离心收集液滴, 去除封口膜。
6. 加入 250 $\mu\text{l}$  无水乙醇至每一个孔中, 贴上封口膜, 900~1200rpm 振荡混匀 3 分钟。短暂离心收集孔口的液滴, 去除封口膜。  
调整好这一步的混匀速度, 以防止溶液在涡旋时溢出, 但又能让溶液充分混匀。若无 96 孔涡旋仪, 可以用移液枪吸打混匀几次。
7. 按方案 A 的第 6-14 步进行操作。