

HiPure Swab DNA 96 Kit

96 孔拭子 DNA 抽提试剂盒

产品组份

产品编号	D3132-01	D3132-02	D3132-03
纯化次数	1 x 96	4 x 96	20 x 96
HiPure DNA Plate	1	4	20
1.6ml Collection Plate	1	4	20
0.5ml Collection Plate	1	4	20
Buffer ATL	60 ml	200 ml	900 ml
Buffer AL	60 ml	200 ml	900 ml
Buffer GW1 *	44 ml	2 x 110 ml	3 x 220 ml
Buffer GW2 *	50 ml	2 x 100 ml	4 x 200 ml
Proteinase K	30 mg	120 mg	600 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	15 ml	60 ml
Buffer AE	30 ml	120 ml	500 ml

保存条件

HiPure DNA 96 Kit 可在室温下(15-25°C)干燥保存 18 个月。长期保存时需置于 2-8°C。低温下，Buffer ATL 可能会有沉淀形成，需 37°C 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 2-8°C。

产品简介

HiPure DNA 96 Kits 采用 96 孔硅胶板纯化技术，可高通量从动物组织，培养细胞和血液中提取总 DNA。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 90 分钟。得到的 DNA 可直接用于 PCR, Southern blot, 病毒 DNA 检测等实验。HiPure Swab DNA 96 Kit 适合于从 96 个拭子或唾液样品提取 DNA。

准备事项

- 96 孔板离心机(>3,000 x g)
- 溶解 Proteinase K (20mg/ml): 加入 Protease Dissolve Buffer 至 Proteinase K 干粉瓶子中直至浓度为 20mg/ml。轻轻振荡让 Proteinase K 充分溶解，保存于-20℃。
- 按瓶子标签所示，用无水乙醇稀释 Buffer GW1，并于室温保存。
- 按瓶子标签所示，用无水乙醇稀释 Buffer GW2，并于室温保存。
- 2.2ml 深孔板[自备][可以用 1.6ml 深孔板代替]

实验步骤

A. 拭子样品

1. 在 2.2ml 深孔板[自备]中，加入 10 μ l Proteinase K 至每一个孔中。
2. 转移一个拭子样品至装有蛋白酶 K 的孔中。
3. **每孔加入 400~600 μ l Buffer ATL 至样品中。**贴上封口膜，振荡混匀 60~90 秒。55℃ 水浴 15~30 分钟。
为减少封口膜的液滴形成，这一步建议在干燥箱中进行温育。
4. 短暂离心收集管壁上的液滴。去除封口膜。
5. **转移 300 μ l 消化液至新的 96 孔板中，加入 300 μ l Buffer AL 和 300 μ l 无水醇至样品中。**贴上封口膜，振荡混匀 90~120 秒。按第 6 步进行操作(离心法或抽滤法)。
在 96 孔振荡仪上设定振荡速度：在一个空的 2ml 96 孔板中，加入 900 μ l 灭菌水，然后转移至振荡仪上，设定最大涡旋速度但又不会让灭菌水溢出孔口。Buffer AL 和无水乙醇可以预先混匀，以减少加

液的次数。

B. 唾液样品

1. 在 2.2ml 深孔板(自备)中, 加入 10 μ l Proteinase K 至每一个孔中。
2. **转移 300 μ l 保存唾液样品至孔中, 振荡混匀 10 秒。**
3. 55 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟。
4. **每孔加入 300 μ l Buffer AL 至样品中。**在 96 孔涡旋仪振荡混匀 120 秒 (900~1200rpm)。70 $^{\circ}$ C 温育 10 分钟。
5. **加入 300 μ l 无水乙醇至样品中。**贴上封口膜, 振荡混匀 150~180 秒。按第 6 步进行操作(离心法或抽滤法)。

在 96 孔振荡仪上设定振荡速度: 在一个空的 2ml 96 孔板中, 加入 1.5ml 灭菌水, 然后转移至振荡仪上, 设定最大涡旋速度但又不会让灭菌水溢出孔口。由于溶液体积很大, 这一步无法达到涡旋效果, 混匀需要较长的时间。

上板吸附 DNA(离心法)

6. 把 DNA 结合板装在 1.6ml 收集板中。转移混合液(第 5 步)至 DNA 结合板中。3,000~5,000 \times g 离心 3 分钟。
为达到充分混匀的效果, 转移混合液时, 处理唾液样品时用移液枪吸打混匀 3~5 次。
7. 倒弃流出液, 把结合板装回 1.6ml 收集板中。**加入 600 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上。**3,000~5,000 \times g 离心 3 分钟。
8. 倒弃流出液, 把结合板重新装回 1.6ml 收集板中。**加入 600 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中,** 3,000~5,000 \times g 离心 3 分钟。
9. 倒弃流出液, 把结合板重新装回 1.6ml 收集板中。**加入 600 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中,** 3,000~5,000 \times g 离心 3 分钟。
10. 倒弃流出液, 把结合板重新装回 1.6ml 收集板中。4,000 \times g 离心 15 分钟甩干基质;
11. 将结合板转移至新的 0.5ml 收集板中。**加入 80~100 μ l 预热至 55 $^{\circ}$ C Buffer AE 至膜中央。**室温放置 3 分钟。4,000~5,000 \times g 离心 5 分钟。

处理 DNA 含量很低的样品无需第二次洗脱。

12. 丢弃结合柱，把 DNA 保存 2-8℃，长期保存需保存于-20℃。

上板吸附 DNA(真空抽滤法)

6. 连接好 96 孔抽滤盒与真空泵；把废液收集槽放置在真空抽滤盒的底盒中。盖上真空抽滤盒上盖，把 DNA 结合板放置真空抽滤盒的上盖中。
7. **把一半体积混合液(第五步)转移至 DNA 结合板中。**打开真空泵，用手压紧结合板，当真空泵压力上升后，轻开手。抽滤 1~3 分钟让裂解液过滤。关闭真空泵。
为达到充分混匀的效果，转移混合液时，处理唾液样品时用移液枪吸打混匀 3~5 次。
8. **把余下的混合液再转移至 DNA 结合板中。**打开真空泵，用手压紧结合板，当真空泵压力上升后，轻开手。抽滤 1~3 分钟让裂解液过滤。关闭真空泵。
9. **每孔中加入 600µl GW1。**静置 2 分钟。打开真空泵，用手压紧结合板，当真空泵压力上升后，轻开手。抽滤 1~3 分钟。
10. **每孔中加入 600µl Buffer GW2。**抽滤 1~3 分钟。
11. **每孔中加入 600µl Buffer GW2。**抽滤 1~3 分钟。
12. 把结合板放在干净的吸水纸上，4,000 × g 离心 15 分钟甩干基质。
13. 将结合板转移至 0.5ml 收集板中。**加入 80~100µl 预热至 55℃ Buffer AE 至膜中央。**室温放置 3 分钟。4,000~5,000 × g 离心 5 分钟。
14. 丢弃结合柱，把 DNA 保存 2-8℃，长期保存需保存于-20℃。