

D3392 Blood DNA Mini Kit

简易中文步骤

√实验前请按说明书正确稀释以下溶液。

➤ 使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释，稀释后室温保存。

货号	加入量
D3392-00	1.6mL
D3392-01	10mL
D3392-02	32mL

➤ 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
D3392-00	6mL
D3392-01	60mL
D3392-02	100mL (每瓶)

≤250μl 血液及体液 DNA 离心操作方案

注意：以下方案适用于 1-250μl 体积新鲜或冷冻血液样本，抗凝全血、唾液、血清、黄层等体液均可使用。取出血液样品放置于 37°C 室温解冻。将水浴锅调至 65°C，放置 Elution Buffer 到水浴锅预热（每份样品需要 0.5mL），所有离心步骤均在室温条件下进行。

1. 转移 250μl 血液至干净的离心管，如果样本体积达不到 250μl，加入 10mM Tris-HCl，PBS 缓冲液或 Elution Buffer 使整个体积达到 250μl；
2. 加入 25μl 的 OB 蛋白酶和 250μl Buffer BL，最高速度涡旋 15s 充分混匀。如果需要得到无 RNA 的基因组 DNA，每个样品加入 5μl RNase A (50mg/ml)；
3. 65°C 水浴 10min，水浴期间取出样品短暂涡旋一次；
4. 加入 260μl 无水乙醇 (96-100%，室温)，最高速度涡旋 20s 混匀；
5. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套在 2mL 收集管中（已提供），将步骤 4 得到的溶液全部转移至 HiBind® DNA Mini 结合柱中，10,000xg 离心 1min，弃收集管和滤液；
6. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套在新的 2mL 收集管中，加入 500μl HBC Buffer 至 HiBind® DNA Mini 结合柱中，10,000xg 离心 1min，弃滤液；
Note: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书用异丙醇进行稀释。
7. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套在同一个 2mL 收集管中，加入 700μl DNA Wash Buffer 至 HiBind® DNA Mini 结合柱中，10,000xg 离心 1min，弃滤液和收集管；

Note: DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。

8. 重复步骤 7 用 DNA Wash Buffer 进行二次洗涤。
9. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套在同一个 2mL 收集管中, 最大转速 (>10,000xg) 离心 2min 以干燥 HiBind® DNA Mini 结合柱的基质;
10. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套在 1.5mL 灭菌离心管, 加入 100-200µl 65°C 预热的 Elution Buffer, 室温静置 5min;
11. 室温下, 13,000xg 离心 1min, 洗脱 DNA;
12. 重复步骤 10-11;
注意: 以下步骤的任何组合都可用于帮助提高 DNA 产量。
 - 添加 Elution Buffer 后, 将柱子孵育 5 分钟。
 - 增加洗脱体积。
 - 使用新的 Elution Buffer 重复洗脱步骤 (可能会提高产量, 但是降低浓度)。
 - 使用第一次洗脱的洗脱液重复洗脱步骤 (可在保持洗脱体积的同时增加产率)。
13. 将 DNA 贮存于-20°C。

提取口腔棉签 DNA

1. 将样品加入到 2mL 离心管中, 加入 500µl PBS;
2. 加入 25µl OB Protease Solution 和 500µl BL Buffer, 最大速度涡旋 30s;
3. 65°C 孵育 10min, 丢弃棉头;
4. 加入 500µl 无水乙醇, 最大速度涡旋 20s;
5. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套在新的 2mL 收集管中, 转移步骤 4 中的样品混合溶液进入到柱子中, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;
6. 重复步骤 5, 直至将全部混合液转移过柱;
7. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套回到 2mL 收集管中, 加入 500µl HBC Buffer, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;

Note: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书用异丙醇进行稀释。

8. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套回到 2mL 收集管中, 加入 700µl DNA Wash Buffer, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;

Note: DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。

9. 重复步骤 8, 用 DNA Wash Buffer 进行二次洗涤;
10. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套回到 2mL 收集管中, 10,000xg 空柱子离心 2min 干燥;
11. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套入到新的 2mL 离心管中, 加入 100-200µl 65°C 预热的 Elution Buffer, 室温静置 5min, 13,000xg 离心 1min;

12. 重复步骤 11;

注意：以下步骤的任何组合都可用于帮助提高 DNA 产量。

- 添加 Elution Buffer 后，将柱子孵育 5 分钟。
- 增加洗脱体积。
- 使用新的 Elution Buffer 重复洗脱步骤（可能会提高产量，但是降低浓度）。
- 使用第一次洗脱的洗脱液重复洗脱步骤（可在保持洗脱体积的同时增加产率）。

13. 将洗脱的 DNA 保存到-20°C。

提取干血 DNA 方案

1. 将干血样本加入到 2mL 新的离心管中，
2. 加入 250µl PBS;
3. 65°C 孵育 1h，孵育期间每隔 20min 取出短暂涡旋;
4. 加入 25µl OB Protease Solution，最大速度涡旋 15s;
5. 65°C 孵育 30min，孵育期间取出涡旋，13,000xg 离心 5min;
6. 转移上清液至新的 2mL 离心管;
7. 加入等体积的 BL Buffer 和等体积的无水乙醇，涡旋混匀;
8. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套入到 2mL 收集管中，转移步骤 7 中的混合液至柱子中，10,000xg 离心 1min，弃滤液;
9. 重复步骤 8，直至将所有混合液转移过柱;
10. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套回到 2mL 收集管中，加入 500µl HBC Buffer，10,000xg 离心 1min，弃滤液;

Note: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书用异丙醇进行稀释。

11. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套回到 2mL 收集管中，加入 700µl DNA Wash Buffer，10,000xg 离心 1min，弃滤液;

Note: DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。

12. 重复步骤 11，使用 DNA Wash Buffer 进行二次洗涤;
13. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套回到 2mL 收集管中，最大速度 ($\geq 10,000xg$) 空柱子离心 2min;
14. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套入到新的 2mL 离心管中，加入 100-200µl 65°C 预热的 Elution Buffer，室温静置 5min， $\geq 13,000xg$ 离心 1min;
15. 重复步骤 14 进行二次洗脱;

注意：以下步骤的任何组合都可用于帮助提高 DNA 产量。

- 添加 Elution Buffer 后，将柱子孵育 5 分钟。
- 增加洗脱体积。

- 使用新的 Elution Buffer 重复洗脱步骤（可能会提高产量，但是降低浓度）。
- 使用第一次洗脱的洗脱液重复洗脱步骤（可在保持洗脱体积的同时增加产率）。

16. 将洗脱的 DNA 保存到-20°C。

血液黄层提取方案

1. 转移样品至微量离心管，加入 10mM Tris-HCl, PBS 或 Elution Buffer 将体积调整至 500µl;
2. 加入 25µl OB Protease Solution 和 500µl BL Buffer, 最大速度涡旋混匀 15s;
3. 65°C 孵育 10min, 期间取出涡旋混匀一次;
4. 加入 500µl 无水乙醇, 最大速度涡旋混匀 20s;
5. 简单离心将管盖上的溶液甩下;
6. 将 HiBind® DNA Mini Column 套入到 2mL 收集管中, 转移 750µl 样品至 HiBind® DNA Mini Column, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;
7. 重复步骤 6 直至将所有样品转移过柱;
8. 将 HiBind® DNA Mini Column 套回到 2mL 收集管中, 加入 500µl HBC Buffer, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;

Note: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书加入异丙醇稀释。

9. 将 HiBind® DNA Mini Column 套回到 2mL 收集管中, 加入 700µl DNA Wash Buffer, 10,000xg 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。

10. 重复步骤 9, 用 DNA Wash Buffer 进行二次洗涤;
11. 将 HiBind® DNA Mini Column 套回到 2mL 收集管中, 空柱子最大速度 ($\geq 10,000xg$) 离心 2min;
12. 将 HiBind® DNA Mini Column 套入到新的 2mL 离心管中, 加入 100-200µl 65°C 预热的 Elution Buffer, 室温静置 5min, $\geq 13,000xg$ 离心 1min;

13. 重复步骤 12 进行二次洗脱;

注意: 以下步骤的任何组合都可用于帮助提高 DNA 产量。

- 添加 Elution Buffer 后, 将柱子孵育 5 分钟。
- 增加洗脱体积。
- 使用新的 Elution Buffer 重复洗脱步骤（可能会提高产量，但是降低浓度）。
- 使用第一次洗脱的洗脱液重复洗脱步骤（可在保持洗脱体积的同时增加产率）。

14. 将洗脱的 DNA 保存到-20°C。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准