



## 产品信息:

		DL128-01
试剂盒组成	保存	50 次
裂解液 ML	室温	20ml
结合液 CB	室温	20ml
抑制物去除液 IR	室温	25ml
漂洗液 WB	室温	15ml 第一次使用前加入 60ml 无水乙醇
Carrier RNA	-20℃	50μl
洗脱缓冲液 EB	常温	10ml
蛋白酶 K (20mg/ml)	室温	1ml
吸附柱 AC	室温	50 个
收集管	室温	50 个

**保存条件:** 本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

## 产品介绍:

本试剂盒采用特制的进口 DNA 吸附柱和独特的缓冲液系统，特别适合于从口腔咽拭子中分离纯化基因组 DNA。各种来源样品裂解消化处理后 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜（特别配备了 Carrier RNA 可以从体系中轻松捕获微量核酸），再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，将盐、细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净的基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。纯化后的 DNA 无杂质和 PCR 抑制剂，可直接适用于 PCR 分析。

## 产品特点:

1. 配备了 Carrier RNA 用于充分收集特别微量 DNA。
2. 提取的 DNA 纯度高，质量稳定可靠，可适用于各种常规操作，包括 PCR、酶切、测

序、Southern 杂交等。

#### 注意事项:

1. 结合液 CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀, 可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解, **恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化。
3. Carrier RNA
  - a. **Carrier RNA 使用方法: 如果起始处理量很少 (口腔咽拭子上收集到的细胞很少), 我们推荐使用 Carrier RNA, 如果预期有较大量 DNA 产量, 用户可以根据需要选择是否加入 Carrier RNA。**使用时每个样品提取所需结合液 CB 中加入 1μl Carrier RNA 储存溶液, 将结合液 CB 与 Carrier RNA 溶液**充分颠倒混匀**即可(结合液 CB 容易起泡沫, 请勿使用涡旋振荡混匀)。也可根据样品数量, 在总共需要的结合液 CB 中加入总共需要的 Carrier RNA 混匀备用。混合液在室温 24 小时内稳定。
  - b. Carrier RNA 加入过多造成 DNA 洗脱液中 Carrier RNA 浓度过高, 下游 PCR 反应可能受干扰, 加入过少可能并不能帮助提高 DNA 产量和 PCR 敏感度, 因此加入量应该在具体试验中调整以得到最佳效果。

**自备试剂:** 无水乙醇

#### 操作步骤:

**提示:** 第一次使用前请先在 15ml 漂洗液 WB 中加入 60ml 无水乙醇, 充分混匀, 加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!

**取样:** 取一根医用消毒棉签 (手不要碰触脱脂棉部位), 伸进口腔, 紧靠脸颊内侧来回刮拭 20 次 (不时旋转棉棒), 需充分接触口腔粘膜。

**注意:** 避免用手触及棉签, 采集前可先用清水轻轻漱口。为防止样本被食物或者饮料污染, 取样前 30 min 内应该避免进食或者饮水。

1. 用剪刀将棉签部分从其杆上剪下, 放入 2ml 离心管中, 加入 400μl 裂解液 ML。
2. 再加入 20μl 的蛋白酶 K (20mg/ml) 溶液, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 56℃ 放置 30 min, 期间每 10 min 涡旋混匀 10 sec。
3. 加入 400μl 结合液 CB, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 70℃ 放置 10 min (挤压去除拭子, 将尽可能多的裂解液转移至新的离心管中)。

**如果拭子上细胞数量少, 导致提取的基因组 DNA 产量过低, 可以在 400μl 结合液 CB 中加入 1μl Carrier RNA 储存溶液。**

4. 冷却后加 200μl 无水乙醇, **立刻涡旋振荡充分混匀**。简短离心以除去管盖内壁的液滴, 收集所有的液体到管底。(如果周围环境高于 25℃, 乙醇需要冰上预冷后再加入)
5. 将上一步混合物中加入一个吸附柱 AC 中 (吸附柱放入收集管中), 12,000rpm 离心 30-60 sec, 倒掉收集管中的废液。

- 6.加入 500 $\mu$ l 抑制物去除液 IR, 12,000rpm 离心 30 sec, 弃废液。
- 7.加入 500 $\mu$ l 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。
- 8.重复操作步骤 7。
- 9.将吸附柱 AC 放回空收集管中, 12,000rpm 离心 2 min, 将吸附柱置于室温放置数分钟, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
- 10.取出吸附柱 AC, 放入一个干净的离心管中, 在**吸附膜的中间部位**加 20-50 $\mu$ l 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热效果更好), 室温放置 1 min, 12,000rpm 离心 1 min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 室温放置 1 min, 12,000rpm 离心 1 min。洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 如果需要 DNA 浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于 20 $\mu$ l, 体积小降低 DNA 洗脱效率, 减少 DNA 产量。

(注意:DNA 产物应保存在-20 $^{\circ}$ C, 以防 DNA 降解)

### DNA 浓度及纯度检测

得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD<sub>260</sub> 处有显著吸收峰, OD<sub>260</sub> 值为 1 相当于大约 50 $\mu$ g/ml 双链 DNA、40 $\mu$ g/ml 单链 DNA。OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值应为 1.7-1.9, 如果洗脱时不使用洗脱缓冲液, 而使用灭菌水比值会偏低, 因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值, 但并不表示纯度低。

BM190905