



口腔/咽拭子基因组 DNA 快速提取试剂盒

Rapid Swab DNA Kit

产品信息：

试剂盒组成	保存	DL128-01
		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
		第一次使用前按说明加指定量乙醇
Carrier RNA	-20℃	50μl
洗脱缓冲液 EB	常温	10ml
蛋白酶 K (20mg/ml)	-20℃	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。蛋白酶 K 可室温运输，建议 -20℃ 长期保存。

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 在高离子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°C 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
 - 1) **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 1 μ l 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。
 - 2) 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。

注意事项: 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 400 μ l 裂解液 ML。
2. 再加入 20 μ l 的蛋白酶 K (20mg/ml) 溶液, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 56°C 放置 30 min, 期间每 10 min 涡旋混匀 10 sec。
3. 加入 400 μ l 结合液 CB, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 70°C 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 400 μ l 结合液 CB 中加入 1 μ l Carrier RNA 储存溶液。

4. 冷却后加 200 μ l 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°C, 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 μ l 抑制物去除液 IR，12,000rpm 离心 30 sec，弃废液。
 - 7.加入 500 μ 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 μ 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 μ l，体积过小降低 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 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰，OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50 μ g/ml 双链 DNA、40 μ g/ml 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 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。