

口腔拭子 DNA 试剂盒说明书

产品组成

口腔拭子 DNA 试剂盒	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	4300005	4300050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 收集管	5 个	50 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml
Buffer AT	2.5 ml	25 ml
Buffer SL	2.5 ml	25 ml
Buffer WA (浓缩液)	1.9 ml	12 ml
Buffer WB (浓缩液)	1.5 ml	9.5 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

蛋白酶 K 贮存液可室温运输，收到后请置于 -20°C 贮存，其他试剂与物品储存于常温（0~30°C），可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从口腔拭子中分离纯化总 DNA（包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及可能存在的病毒 DNA）。被溶解释放的 DNA 结合到纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则过滤除去，DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管
3. 移液器及吸头
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式少量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 恒温摇床或水浴锅和旋涡振荡器

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C。
2. 将恒温摇床或水浴锅温度设置到 56°C 和 70°C，将 Buffer AT 和 Buffer TE 温育至 56°C。
注意：当室温低于 15°C 时，Buffer AT 可能会有沉淀析出，温育后请仔细观察沉淀是否完全溶解，并颠倒混匀后再使用。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

1. 将口腔拭子的棉签部分剪下，放入一个 2 ml 离心管（用户自备）中。
 - * 标本取样方式：用拭子在口腔内面颊处两边各擦拭 10 次。
 - * 被取样者取样前半小时内请勿进食或饮水。
2. 加入 400 μ l 56°C 预热的 Buffer AT，再入 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液，盖上管盖，旋涡振荡约 15 秒混匀。
3. 将 2 ml 离心管放入 56°C 摇床中，900 rpm 温育 1 小时。
 - * 如果改用水浴锅 56°C 水浴 1 小时，则水浴期间每隔 15 分钟旋涡振荡数次帮助样本溶解。
4. 加入 400 μ l Buffer SL，盖上管盖，旋涡振荡约 15 秒混匀。
5. 将 2 ml 离心管放入 70°C 摇床中，900 rpm 温育 10 分钟。
 - * 如果改用水浴锅 70°C 水浴 10 分钟，则水浴期间每隔 3 分钟旋涡振荡数十秒帮助样本溶解。
6. 加入 200 μ l 无水乙醇，盖上管盖，旋涡振荡约 15 秒混匀。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。
7. 吸取 700 μ l 步骤 6 中的上清液加入到核酸纯化柱（核酸纯化柱置于 2 ml 收集管中）中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。
8. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 500 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在收集管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 收集管在纸巾上倒扣拍击一次。
 - * 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。
9. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 600 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。
10. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，14000 rpm 离心 1 分钟。
 - * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
 - * 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 PCR 效果。
11. 弃 2 ml 收集管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱中加入 60~100 μ l 56°C 温育的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。
12. 弃纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于 -20°C 备用。