



北京艾德莱生物科技有限公司

Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

- ◆ 口腔/咽拭子基因组DNA快速提取试剂盒
 - ◆ 目录号 DN30
 - ◆ 使用手册
 - ◆ 实验室使用，仅用于体外
-

口腔/咽拭子基因组 DNA 快速提取试剂盒

目录号: DN30

目录编号	包装单位
DN3001	50次

❖ **适用范围:**

适合于从口腔/咽拭子中分离纯化基因组DNA。

❖ **试剂盒组成、储存、稳定性:**

试剂盒组成	保存	50次
裂解液 ML	室温	20 ml
结合液 CB	室温	20 ml
抑制物去除液 IR	室温	25 ml
漂洗液 WB	室温	15ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
Poly Carrier	-20℃	200µl
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml
蛋白酶 K 粉 (可选) 20mg/ml	-20℃	20 mg
吸附柱 AC 和收集管	室温	50 套

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果



储存事项:

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. 为避免降低活性，方便运输，提供**蛋白酶 K 为冻干粉状**，收到后，可短暂离心后，加入 **1 毫升灭菌水溶解**。因为反复冻融可能会降低酶活性，因此溶解后立即按照每次使用量分装冻存，-20℃ 保存。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。





❖ **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 Poly Carrier 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。典型产量 0.5μg-3.5μg/拭子。

❖ **产品特点：**

1. 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 节省时间，简捷，单个样品操作一般可在 20 分钟内完成。
3. 配备了 Poly Carrier 用于充分收集特别微量 DNA。
4. 多次柱漂洗确保高纯度，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. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000rpm的传统台式离心机，如Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到特定温度备用。
3. 结合液 CB 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. **Poly Carrier:**

Poly Carrier 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Poly Carrier，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PolyCarrier。使用时在每个样品提取所需400 μ l结合液CB 中加入4 μ l Poly Carrier，将结合液CB 与Poly Carrier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Poly Carrier混匀备用。混合液在室温24小时内稳定。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

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 分钟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**，
3. 可选步骤（一般不需要做）：56 $^{\circ}$ C 放置 1 小时，期间每 10 分钟涡旋混匀 10 秒。

一般情况下该步骤可以省略，除非效果不好，再尝试加做此步骤。

4. 加入 400 μ l 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，70 $^{\circ}$ C 放置 10 分钟。此时溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的液滴，然后挤压去除拭子，将尽可能多的裂解液转移至新的离心管。

棉签的棉花可能还吸附一些液体，如果要提高产量，可以用干净镊子夹挤出液体后弃棉花，减少棉花上液体残留。

如果拭子上细胞数量少，导致提取的基因组 DNA 产量低于 1 μ g，可以在 400 μ l 结合液 CB 中加入 4 μ l Poly Carrier。

5. 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 $^{\circ}$ C，乙醇需要冰上预冷后再加入。

6. 将上一步混合物加入一个吸附柱 AC 中，（吸附柱放入收集管中）12,000rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管中的废液。
7. 加入 500 μ l 抑制物去除液 IR，12,000rpm 离心 30 秒，弃废液。
8. 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 秒，弃掉废液。
9. 加入 500 μ l 漂洗液 WB，12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
10. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，13,000rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
11. 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 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置 1 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。

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。

12. DNA 可以短暂存放在 2-8 $^{\circ}$ C，如果要长时间存放，可以放置在 -20 $^{\circ}$ C。

❖ 问题与解决方法

问题	评论与建议
DNA 产量低或者洗脱液中无 DNA	<ul style="list-style-type: none">* Poly Carrier 没有加入到结合液 CB-建议: 仔细阅读注意事项 4。* 样品冻融超过 1 次-建议: 尽量使用新鲜样品和冻融不超过 1 次的样品。* 样品在室温放置过久-建议: 尽快处理样品或者低温适当方式保存。* 裂解不完全, 蛋白酶 K 失效了-建议: 收到蛋白酶 K 后, 按照每次使用量分装冻存, 避免反复冻融。* 结合液 CB 和 Poly Carrier 没有充分混匀-建议: 充分涡旋混匀。* 试剂和样品没有充分混匀-建议: 加入每个试剂后都要充分混匀。* 洗脱效率不高-建议: 确保做了步骤 9, 否则残留乙醇会影响洗脱效率, 仔细阅读步骤 13 和只使用洗脱缓冲液 EB 洗脱。
DNA 的下游反应如 PCR 效果不佳	<ul style="list-style-type: none">* DNA 产量低或者洗脱液中无 DNA-建议: 在下游反应中增加 DNA 用量。* 降低的灵敏度-建议: 确定在下游 PCR 应用中 DNA 洗脱液的最大允许用量, 减少或者增加 DNA 洗脱液在 PCR 反应中的用量, DNA 洗脱体积也可以相应的调整。
DNA 下游酶切不能切开或者酶切不完全	<ul style="list-style-type: none">* 离心柱残留有较多乙醇或者底部不慎沾有乙醇抑制了酶切反应-建议: 确保做了步骤 10, 然后空气中晾几分钟, 让残留乙醇挥发。* 一些硅基质膜成分一起洗脱下来, 抑制了酶切反应-建议: 将洗脱的基因组 DNA 溶液 13,000rpm 再离心一分钟, 小心取上清使用。