

版本号: DP170322

Hi-Swab DNA Kit

高效口腔拭子基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP362

产品内容

产品组成	DP362-01 (50 preps)	DP362-02 (200 preps)
组织消化液GHA (Buffer GHA)	30 ml	120 ml
缓冲液GBS (Buffer GBS)	15 ml	60 ml
去蛋白液RD (Buffer RD)	24 ml	90 ml
漂洗液PWE (Buffer PWE)	25 ml	50 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml	30 ml
Proteinase K	500 μ l	2 \times 1 ml
吸附柱CB2 (Spin Columns CB2)	50个	200个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个	200个
离心管 (1.5 ml) (Centrifuge Tubes 1.5 ml)	50个	200个

选配试剂

口拭子保存液 (目录号: RK112)

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25 $^{\circ}$ C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8 $^{\circ}$ C。2-8 $^{\circ}$ C保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37 $^{\circ}$ C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附膜和独特的缓冲液系统，离心吸附板中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，能够从口腔拭子、咽拭子以及漱口水等多种口腔样本中高效、专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的核酸片段较小且提取量降低。
 2. 若缓冲液GBS中有沉淀，可在室温中重新溶解，摇匀后使用。
 3. 如果样本不能及时提取，可保存在口拭子保存液中（目录号：RK112），长期保存不会影响提取效果。
-

操作步骤

使用前请先在缓冲液GBS中加入异丙醇；在去蛋白液RD和漂洗液PWE中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 处理材料：

1) 口腔拭子样本提取

将在面颊内擦拭过的拭子转移到2 ml离心管中，加入500 μ l缓冲液GHA。加入10 μ l Proteinase K溶液，涡旋10 sec混匀，65 $^{\circ}$ C放置15-30 min，每隔10 min涡旋混匀数次，取出300-350 μ l进行后续实验。

2) 咽拭子样本提取

将在咽部擦拭过的拭子转移到5 ml离心管中，加入1 ml-2 ml的组织消化液GHA，颠倒混匀。在提取前取出300-350 μ l的样品，加入10 μ l Proteinase K溶液，涡旋10 sec混匀，65 $^{\circ}$ C放置30 min，每隔10 min涡旋混匀数次。

3) 唾液样本提取

按照要求取出唾液样本，加入等体积的缓冲液GHA，颠倒混匀。在提取前取出300-350 μ l的样品，加入10 μ l Proteinase K溶液，涡旋10 sec混匀，65 $^{\circ}$ C放置30 min，每隔10 min涡旋混匀数次。

注意：如果样本已经保存在其他厂家的样品保存液里，加入样品1/2体积的组织消化液GHA和10 μ l Proteinase K溶液，涡旋10 sec混匀，65 $^{\circ}$ C放置15-30 min，取出300-350 μ l进行后续实验。提取咽拭子样本和唾液样本时，若组织消化液GHA不足，需另行购买。

- 加入500 μ l缓冲液GBS（使用前请先检查是否已加入异丙醇），充分颠倒混匀，室温放置5 min。
 - 将上一步所得溶液都加入一个吸附柱CB2中（吸附柱CB2放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2放回收集管中。
 - 向吸附柱CB2中加入500 μ l去蛋白液RD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2放回收集管中。
 - 重复操作步骤4一次。
-

-
- 向吸附柱CB2中加入600 μl 漂洗液PWE（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2放回收集管。
 - 重复操作步骤6一次。
 - 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CB2室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
 - 将吸附柱CB2转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加50 μl 洗脱缓冲液TB，室温放置2-5 min，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心2 min。
 - 将溶液收集到离心管中，并于适当条件保存。

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_{260} 处有显著吸收峰， OD_{260} 值为1相当于大约50 $\mu\text{g/ml}$ 双链DNA、40 $\mu\text{g/ml}$ 单链DNA。

$\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用 ddH_2O ，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。
