

## 离心柱法口腔拭子基因组 DNA 提取试剂盒

### 使用说明书

#### 【产品介绍】

本试剂盒通过特异裂解液配合蛋白酶 K 处理口腔拭子上的上皮细胞后，加入结合液使其中的基因组 DNA 特异吸附于硅胶膜上，洗涤除杂后洗脱得到纯净的基因组 DNA。所得基因组 DNA 可用于 PCR、RT-PCR、qPCR、qRT-PCR 等下游分子生物学实验。

#### 【特点】

有效去除蛋白质、盐类、脂类等杂质，所得纯化产物纯度高，有效地保持基因组 DNA 的完整性。

#### 【试剂盒组成】

组分	目录号 CP-011-0 (50 次)	目录号 CP-011-1 (50 次)
裂解液	25 mL	25 mL
结合液	25 mL	25 mL
洗液 1	6 mL	6 mL
洗液 2	12 mL	12 mL
洗脱液	10 mL	10 mL
蛋白酶 K 溶液 (20 mg/mL)	1 mL	1 mL
RNase A 溶液 (10 mg/mL)	/	500 $\mu$ L
离心柱 (含收集管)	50 个	50 个
离心管 (1.5 mL)	50 个	50 个

#### 【保存条件】

蛋白酶 K 及 RNaseA 溶液保存于-20 °C，试剂盒其它成分置于室温干燥处保存，有效期：12 个月。

#### 【操作步骤】

◆ 使用前添加 24 mL 无水乙醇到洗液 1，添加 48 mL 无水乙醇到洗液 2，并做好标记。

◆ 所有离心均在室温下进行。

◆ 将金属浴或水浴提前调至 56 °C。

##### 1. 样本处理

a) 在干净的 2 mL 离心管中加入单个拭子头，盖好管盖（建议用 2mL 离心管，因为 1.5mL 管底可能卡住拭子头影响吸取液体）。

b) 加入 20  $\mu$ L 蛋白酶 K 和 400  $\mu$ L 裂解液，涡旋 15 秒充分混匀样品，56 °C 水浴或金属浴加热 10 分钟，期间涡旋混匀 3 - 5 次。

c) 转移处理好的样品裂解液于新的 1.5mL/2mL 离心管中（最后边用枪头吸液边挤压拭子头，尽量多的转移液体）。

可选步骤：如需去除样本中的 RNA，在上述裂解物中加入 10  $\mu$ L RNase A (10 mg/mL)，涡旋混匀后，室温静置 2 分钟。

2. 在样本裂解液中加入 400  $\mu$ L 结合液，涡旋混匀。

3. 加入 200  $\mu$ L 无水乙醇，涡旋混匀，短暂离心回收管盖上的溶液。

4. 将所有溶液加入离心柱中，12000  $\times g$  离心 1 分钟，弃流出液，将离心柱放回收集管中（离心柱最大加液体积 800  $\mu$ L，如超过最大体积的可以分两次上柱离心）。

5. 在离心柱中加入 500  $\mu$ L 洗液 1 (使用前确认已加入无水乙醇)，12000  $\times g$  离心 30 秒，弃流出液，将离心柱放回收集管中。

- 
6. 在离心柱中加入 500  $\mu\text{L}$  洗液 2 (使用前确认已加入无水乙醇), 12000  $\times\text{g}$  离心 30 秒, 弃流出液, 将离心柱放回收集管中。
  7. 重复步骤 6 一次。
  8. 将空离心柱于 15000  $\times\text{g}$  离心 2 分钟以便彻底去除残留的洗液 2。
  9. 将离心柱置于一干净的 1.5 mL 离心管中, 开盖晾干柱膜 3-5 min (洗液 2 中的乙醇残留可能抑制下游反应)。
  10. 在离心柱膜中央加入 30-100  $\mu\text{L}$  洗脱液, 静置 1 分钟 (如需提高洗脱效率, 可提前将洗脱液置于 65  $^{\circ}\text{C}$  水浴或金属浴中预热), 12000  $\times\text{g}$  离心 1 分钟, 弃离心柱, 所得 DNA 置于 4 $^{\circ}\text{C}$  短期保存或-20  $^{\circ}\text{C}$  长期保存。

#### 【使用注意】

- 为避免产物污染或降解, 建议使用干净、无核酸酶污染的器械或耗材。
- 溶液使用前尽量充分混匀, 同时注意避免溶液间交叉污染。
- 裂解液在环境温度过低时可能有白色絮状物析出, 放置于 50~60  $^{\circ}\text{C}$  加热溶解后再使用。
- 为保证所提取基因组 DNA 的质量, 使用新鲜采集的样品, 避免使用保存时间过长的样品。
- 口腔拭子采集前请漱口, 在口腔内壁擦拭次数越多获取的基因组 DNA 量越大, 建议左右口腔壁擦拭次数各不低于 10 次。
- 口腔拭子如无法立即进行提取, 建议置于干净且干燥的环境中自然晾干后用自封袋密封并独立包装保存。