

操作手册

唾液/口腔拭子 **DNA** 小量提取试剂盒

Catalog No. TD324-50 (50 次反应)

TD324-200 (200 次反应)

Highlights

- 可从唾液/口腔拭子等样品里提取到高纯度的基因组 DNA。
- 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、高通量测序等敏感分子生物学实验。

Ver.1.0.6

产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次	200 次
蛋白酶 K 及其保存液	-20℃	1 管	4 管
液体与细胞消化液（红色）	室温	12 ml	45 ml
基因组 DNA 结合液	室温	25 ml	85 ml
基因组 DNA 洗涤液 1	室温	30 ml	2 x 50 ml
基因组 DNA 洗涤液 2	室温	50 ml	200 ml
基因组 DNA 洗脱液	室温	10 ml	50 ml
2L 柱	室温	50 个	200 个
收集管（2ml）	室温	100 个	400 个

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

环境温度低时基因组固体组织消化液或者基因组 DNA 洗涤液 1 可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解使用。

特性:

- **样品种类:**保存在保护剂里的唾液或口腔拭子。获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR 等各种分子生物学实验。
- **基因组 DNA 大小:**一般可回收到大于 50 kb 的基因组 DNA。如果样品中存在线粒体 DNA，病毒 DNA 等也会一起提取到。
- **DNA 纯度:**获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR 等各种分子生物学实验。

一般情况 $Abs_{260/280} \geq 1.8$ $Abs_{260/230} \geq 2.0$ 。

- **需要的仪器设备:**水浴锅或者金属浴（55℃）。微型离心机，涡旋仪。
- **DNA 纯度:**获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR 等各种分子生物学实验。

一般情况 $Abs_{260/280} \geq 1.8$ $Abs_{260/230} \geq 2.0$ 。

试剂制备:

在操作之前，需添加1060 μ l蛋白酶K保存液到每管蛋白酶K（20mg）中。蛋白酶K溶液的浓度为20mg/ml,混匀后，需要放到-20 $^{\circ}$ C长期保存。

保存在 DNA/RNA 保护剂中的样品

DNA/RNA 保护剂可以在常温下稳定 DNA 和 RNA，方便样品的运输，无需冰箱或者冷链运输，并且有效裂解细胞灭活样品中的病毒。相关产品信息可与我公司联系。（TR110 或 TR120）

唾液，生物液体及细胞培养物

1. 每添加 20 μ l 的蛋白酶 K 到每 400 μ l 含有样品的保护剂中。
2. 混匀或者涡旋 10-15 秒在室温下孵育 20 分钟。
3. 然后从操作步骤的第 2 步进行操作。

口腔脱落细胞及其拭子

提取口腔细胞可以通过漱口或者口腔拭子等方式

- A. 漱口提取方法：用 10-20ml 盐溶液或者漱口水剧烈的漱口 30 秒。漱的越剧烈，获得的细胞会越多。将盐溶液吐到一个 50ml 的离心管中，在 1,500RPM 的转速下离心 5 分钟。去除上清，但不要影响细胞沉淀。之后按照生物液体及细胞的操作步骤进行操作。
- B. 口腔拭子提取方法：在收集细胞之前用清水漱口。用口腔拭子刷脸颊内侧 15 秒（约 20 下），确保覆盖了脸颊内侧的所有区域。将拭子放在一个干净的离心管内用 200 μ l 液体与细胞消化液（红色）与 200 μ l 基因组 DNA 洗脱液的混合液清洗拭子。添加 20 μ l 的蛋白酶 K 混匀，然后在 55 $^{\circ}$ C 下孵育 10 分钟。然后从操作步骤的第 1 步进行操作。

提取步骤:

1. 添加200 μ l的样品到一个离心管中并且添加:

200 μ l 液体与细胞消化液（红色）

20 μ l 蛋白酶K

注意：如果样品超过200 μ l则需要按照比例调整液体与细胞消化液（红色），蛋白酶K及其基因组DNA结合液的用量。

2. 混匀或者涡旋振荡10-15秒然后再55 $^{\circ}$ C下孵育10分钟。

3. 混匀1倍体积的基因组DNA结合液到消化的样品中，混匀或者涡旋振荡10-15秒。

例如：添加420 μ l的基因组DNA结合液到420 μ l消化的样品中。

4. 将上清转移至 2L 柱中，2L 柱套在一个收集管里，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。

5. 将 2L 柱套在一个新的收集管里，添加 400 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 1 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。倒掉收集管中的废液。

6. 添加 700 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。倒掉收集管中的废液。

7. 添加 200 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。

8. 将 2L 柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加 $\geq 50\mu$ l 的基因组 DNA 洗脱液到柱基质上（洗脱液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热效果更好，如果是 25mg 的组织可以添加 200 μ l），室温下放置 2-5 分钟，全速离心 1 分钟来洗脱基因组 DNA。