

口腔拭子基因组 DNA 提取试剂盒

项目号: S666146

储存条件: 室温。

产品内容

组分	50T	200T
Buffer GR	25mL	120mL
Buffer GL	25mL	120mL
Buffer GW1 (concentrate)	13ml	52ml
Buffer GW2 (concentrate)	15mL	75ml
Buffer GE	15mL	60mL
Proteinase K	1.25mL	1.25×4mL
Spin Columns DS with Collection Tubes	50	200
Centrifuge Tubes (1.5 mL)	50	200

产品简介

本试剂盒提供一种简单快速分离纯化口腔拭子样本总 DNA 的方法。该试剂盒采用可特异性结合 DNA 的硅基质膜和独特的缓冲系统, 高效专一吸附 DNA, 每个拭子可得到 0.5-3.5 μ g 基因组 DNA, 提取的 DNA 片段大、纯度高、质量稳定可靠。适用于酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

自备试剂: 无水乙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇。
2. 使用前若发现 Buffer GL 有沉淀, 请将 Buffer GL 于 56℃ 水浴溶解。
3. 全部离心步骤可在室温下进行。
4. 取样: 使用口腔拭子在口腔内壁擦拭 6 次, 晾干 2 小时保存, 为确保样本不被食物或 饮料污染, 取样前 30 分钟内请勿进食和饮水。

操作步骤

1. 将口腔拭子的棉签用剪刀从杆上剪下, 置于 2mL 的离心管 (自备) 中, 加入 400 μ L Buffer GR。
注意: 如需无 RNA 污染的基因组 DNA, 可加入 4 μ L 浓度为 100mg/ml 的 RNase A 溶液震荡混匀。
2. 加入 20 μ L Proteinase K 和 400 μ L Buffer GL, 立即涡旋震荡 15 秒, 充分混匀。
注意: 加入 Buffer GL 后立即充分混匀; 不可将 Proteinase K 直接加入 Buffer GL 中使用。
3. 56℃ 放置 10 分钟, 短暂离心, 使管壁上的溶液收集到管底。
4. 加入 400 μ L 无水乙醇, 涡旋震荡充分混匀, 短暂离心, 使管壁上的溶液收集到管底。

注意：加入无水乙醇后可能会产生白色沉淀，不会影响后续实验。

5. 将上步所得溶液和沉淀分两次加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns DS）中，一次最多不超过 700 μ L。12,000 rpm（ $\sim 13,400 \times g$ ）离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

6. 向吸附柱中加入 500 μ L Buffer GW1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 500 μ L Buffer GW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 3 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

注意：如需进一步提高 DNA 纯度，可重复步骤 7。

8. 12,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。

9. 将吸附柱置于一个新的 1.5 mL 离心管中，向吸附柱的中间部位悬空加入 50 μ L Buffer GE 或灭菌水，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟，收集 DNA 溶液， -20°C 保存。

注意：

1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5（可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围），pH 值 低于 7.0 时洗脱效率不高。

2) 若需长期保存，推荐用 Buffer GE 洗脱并于 -20°C 保存。