

口腔样品 DNA 提取

微量说明书

组分 \ 编号	ZD-TG-40-50
1.5 ml 离心管	1×50 个/包
微量离心柱	1×50 个/包
溶液 GH	1×15ml/瓶
溶液 W1	1×20ml/瓶
溶液 W2	1×6ml/瓶
溶液 TE	1×4ml/瓶
Proteinase K	1×10mg/管
说明书	1 份

【产品介绍】

适用于从各类口腔样品中提取 DNA。在产品缓冲液体系的作用下，DNA 快速释放，吸附于高性能的固相基质，洗脱后获得高纯度 DNA。

【储存条件及有效期】

Proteinase K（固体）置于 2~8℃长期保存。其余组分储存在环境温度 -40℃~40℃，相对湿度不大于 75%，无腐蚀性气体的避光处。

有效期：12 个月。

【注意事项】

- ※ 盒中试剂如不慎溅到皮肤、粘膜时，立即用大量清水冲洗干净。
- ※ 离心柱、离心管为一次性产品。用后废弃物按相关垃圾处理。

【使用前准备】

- ※ 自备试剂耗材：纯水、无水乙醇、合适规格离心管。
盒中的 1.5ml离心管专用于收集最后一步的洗脱液。
- ※ 首次使用前，分别向溶液W1 和W2 瓶中按各自标签要求加入无水乙醇，混匀后标记备用。
- ※ 每管Proteinase K首次使用前用 275µl纯水完全溶解。酶溶解后如未立即用完，应按每次使用量分装成小份后-20℃保存备用，避免因反复冻融造成酶活力下降影响提取效果。

※ 离心均室温进行。

●操作步骤

1. 样本的处理

1.1 新鲜采集口腔拭子

将拭子去杆后放入 1.5ml 离心管中。先加入 Proteinase K 5µl，再加入纯水 210µl，然后加入溶液 GH 250µl，涡旋混匀 15sec。至步骤“2”。

1.2 保存液中口腔拭子

将拭子头在管壁上挤压控去水分后取出，置于 1.5ml 离心管中。将保存液 12000×g 离心 1min，弃上清保留沉淀，加入纯水 125µl 及 Proteinase K 5µl 重悬沉淀，将其全部移入放拭子的离心管中。加入溶液 GH 250µl，涡旋混匀 15sec。至步骤“2”。

1.3 唾液

取 5µl Proteinase K 于 1.5ml 离心管中。先加入 200µl 唾液，再加入溶液 GH 200µl，涡旋混匀 15sec。至步骤“2”。

1.4 漱口水

取漱口水 10~20ml 于离心管中，12000×g 离心 5min。弃上清保留沉淀。加入纯水 200µl 及 Proteinase K 5µl 重悬沉淀后，将其全部移入 1.5ml

离心管中。加入溶液 GH 200μl，涡旋混匀 15sec。至步骤“2”。

注 1：按顺序加入各试剂，不可将 Proteinase K 与溶液 GH 直接混合。

注 2：饮食后间隔 1 小时或更久采集样本可获得更好结果。

2. 56 ℃温育 60min，期间每 10~15min 混匀一次以加速裂解，使用自动混摇仪效果更佳。
3. （样本为拭子时，离心前先将拭子在管壁上挤压控去水分后丢弃）
12000×g 离心 2min。将上清液移入新的 1.5ml 离心管中，向管中加入上清液一半体积的无水乙醇，充分混匀。
4. 将液体全部移入套有收集管的微量离心柱中，8000×g 离心 2min。取出离心柱后弃去收集管中废液，将离心柱放回收集管中。
注：本步及后续步骤中离心后如发现微量柱中有液体残留时，需增加转速再次离心使液体全部滤过。
5. 向离心柱中加入 200μl 溶液 W1，8000×g 离心 1min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。
6. 向离心柱中加入 200μl 溶液 W2，8000×g 离心 1min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。
7. 重复步骤“6”一次。
8. 12000×g 离心 2min。
9. 将离心柱取出后放入新的 1.5ml 离心管（使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理）中。向柱中央加入 5~20μl 溶液 TE，室温放置 2~3min 后，12000×g 离心 1min。DNA 溶液即收集在 1.5ml 离心管中。
注：为提高得率，向柱中央再加入 5~20μl 溶液 TE，室温放置后离心收集 DNA 溶液。注意这会增大溶液体积并降低 DNA 浓度。也可将离心收集的 DNA 溶液重新加回柱膜中央后室温放置 2min，12000×g 离心 1min 收集液体，这可提升 DNA 浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

下为用溶液 TE 按不同方法洗脱微量柱中 gDNA 的回收率（供参考）。

加入溶液 TE 体积		5μl	20μl
回收率	步骤“9”洗脱后	64%（5μl）	76%（20μl）
	再加入溶液 TE 洗脱后	82%（10μl）	92%（40μl）
	将步骤“9”收集的 DNA 溶液重新加回柱中再次洗脱后	71%（5μl）	87%（20μl）

*括号内为收集到的 DNA 溶液体积。

注意！吸取 DNA 溶液用于后续分析及实验时小心吸取上部液体即可，不可振摇或吸打混匀液体。这会吸入底部已沉淀的从柱子上脱落的微小颗粒，可能造成后续实验仪器堵塞。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页：<http://www.genepure.com>

电话：4008780133