

口腔样品 DNA 提取

小量说明书

编号 组分	ZD-TG-41-50	ZD-TG-41-100	ZD-TG-41-200
1.5 ml 离心管	1×50 个/包	2×50 个/包	4×50 个/包
mini 离心柱	1×50 个/包	2×50 个/包	4×50 个/包
溶液 GH	1×15ml/瓶	1×30ml/瓶	1×60ml/瓶
溶液 W1	1×20ml/瓶	1×40ml/瓶	1×80ml/瓶
溶液 W2	1×12ml/瓶	1×24ml/瓶	1×48ml/瓶
溶液 TE	1×12ml/瓶	2×12ml/瓶	4×12ml/瓶
Proteinase K	1×10mg/管	2×10mg/管	4×10mg/管
说明书	1 份	1 份	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。
- ※ 吸附柱、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 550μl 纯水完全溶解。酶溶解后如未立即用完，应分别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 10μl，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 10μl 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 Proteinase K 10μl 于 1.5ml 离心管中。先加入唾液 250μl，再加入溶液 GH 250μl，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 250μl 及 Proteinase K 10μl 重悬沉淀后，将其全部移入 1.5ml

离心管中。加入溶液 GH 250μl，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 小时或更久采集口腔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 mini 离心柱中，12000×g 离心 1min。弃去收集管中废液，将离心柱放回收集管中。
- 5. 向离心柱中加入 550μl 溶液 W1，12000×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 550μl 溶液 W2，12000×g 离心 30sec。弃去收集管中废液，将离心柱放回。
- 7. 重复步骤“6”一次。
- 8. 最高转速（≥12000 ×g）离心 2min。
- 9. 将离心柱取出后放入新的 1.5ml 离心管中。向柱中加入 50~100μl 溶液 TE，室温放置 2~3min 后，最高转速（≥12000×g）离心 1min。DNA 溶液即收集在 1.5ml 离心管中。

注 1)：为提高得率，可向柱中央再加入 50~100μl 溶液 TE，室温放置后离心收集、合并 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。

注意！放入离心柱的 1.5ml 离心管最多容纳 200μl 液体。如果需两次洗脱并且使用的溶液 TE 总体积多于 200μl 时，使用不同的离心管收集两次的

DNA 溶液或将第一次收集的液体先取出保存。

下表为 mini 柱用溶液 TE 按不同方法洗脱 gDNA 得率（供参考）。

每次加入溶液 TE 的体积		50μl	100μl	200μl
D N A 得 率	步骤“9”溶液 TE 洗脱后	59 % (50μl)	74% (100μl)	78% (200μl)
	向柱中央再加入溶液 TE 洗脱后	82% (100μl)	87% (200μl)	92% (400μl)
	将步骤“9”收集的 DNA 溶液重新加回柱中再次洗脱后	72% (50μl)	82% (100μl)	87% (200μl)

*括号内为收集到的 DNA 溶液总体积。

注 2)：可选用纯水（自备）进行洗脱。纯水 pH 值不低于 7，且 DNA 产物应于-20℃保存以防降解。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页：<http://www.genepure.com>

电话：4008780133