

A&DNext 口腔拭子 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

A&DNext 口腔拭子 DNA 提取试剂盒 Cat. No.	5 次样品 A-4300005	50 次制备 A-4300050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml
Buffer AT	2.5 ml	30 ml
Buffer SL	2.5 ml	30 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	9.5 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

蛋白酶 K 贮存液请于-20℃贮存。

其他试剂与物品如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品贮存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: tech@aderr.com 电话：010-57225208。

产品介绍

本产品适合从口腔拭子中离纯化总 DNA（包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及可能存在的病毒 DNA）。被溶解释放的 DNA 结合到纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则过滤除去，DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5ml 离心管和 2 ml 离心管
3. 移液器及吸头
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式少量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
6. 恒温摇床或水浴锅和旋涡振荡器

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
- 2) 将恒温摇床或水浴锅温度设置到 56℃和 70℃，将 Buffer AT 和 Buffer TE 温育至 56℃。
- 3) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

1. 将口腔拭子的棉签部分剪下，放入一个2 ml离心管中。

* 标本取样方式：用棉拭子在口腔内面颊处两边各擦拭10次。

* 被取样者取样前半小时内请勿进食或饮水。

2. 加入400 μ l 56 $^{\circ}$ C预热的Buffer AT，再入20 μ l蛋白酶K贮存液，旋涡振荡约15秒混匀。

3. 将2 ml离心管放入56 $^{\circ}$ C摇床中，900rpm温育1小时。

* 如果改用水浴锅56 $^{\circ}$ C水浴1小时，水浴期间每隔15分钟漩涡振荡数次帮助细胞溶解。

4. 加入400 μ l Buffer SL，旋涡振荡约15秒混匀。将2 ml离心管放入70 $^{\circ}$ C摇床中，900rpm温育10分钟。

* 如果改用水浴锅70 $^{\circ}$ C水浴10分钟，水浴期间每隔3分钟漩涡振荡数10秒帮助细胞溶解。

5. 加入200 μ l无水乙醇，旋涡振荡约15秒混匀。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。

6. 吸取步骤5中700 μ l上清液加入到核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。

* 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。

7. 弃2ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml离心管中，在核酸纯化柱中加入500 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2ml离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

8. 弃2ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml离心管中，在核酸纯化柱中加入600 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。

* 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

9. 弃2ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml离心管中，14000 rpm 离心1分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到14000 rpm，则用最高速离心2分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的PCR效果。

10. 弃2ml离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的1.5 ml离心管中，在纯化柱中加入80~150 μ l 56 $^{\circ}$ C温育的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置1分钟，12000 rpm 离心30秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为8000 rpm 离心1分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

11. 弃纯化柱，洗脱的DNA可立即用于各种分子生物学实验；或者将DNA储存于-20 $^{\circ}$ C备用。