

96 口腔拭子 DNA 快速提取试剂盒

一、产品简介

本试剂盒专门为从口腔拭子刮取的黏膜组织和浸润的唾液中提取基因组 DNA 而设计,能有效回收 >50 bp 已降解的 DNA,包括降解的基因组 DNA,线粒体 DNA 和病毒 DNA 等;预期产量为 2-5 µg DNA/样品[□]。

本试剂盒使用 96 DNA 吸附板-C15 回收 DNA,完全避免个别孔可能被堵塞的情况,确保样品提取的均一性,最小洗脱体积为 25 µl,最大洗脱总体积为 140 µl。

原理: Buffer SL 与蛋白酶 K 裂解细胞释放 DNA, Buffer GBR 调整结合条件,硅胶材料选择性吸附 DNA,洗涤去除蛋白和盐,低盐溶液洗脱 DNA。

建议采样方式: 使用吸水性强的棉质或无纺布材质的口腔拭子,含口中充分浸润唾液(唾液中 DNA 含量丰富)在脸颊内测刮 10-20 次。

产品选择指南

目录号	DK803/ DK803-96-2	DK805/ DK805-96-2
产品名	痕量 DNA 提取试剂盒 96 痕量 DNA 提取试剂盒	口腔拭子 DNA 快速提取试剂盒 96 口腔拭子 DNA 快速提取试剂盒
保护液 [*]	Buffer SD1	Buffer SL
拭子材质 [°]	棉质、无纺布、海绵	棉质、无纺布
体积损失	吸取溶液,损失体积 20-30%	吸取溶液,损失体积 20-30%
DNA 吸附效率	约 90%	50-70%
预期产量 [□]	4-8 µg	2-5 µg
操作简便性	同比 DK805 多一次漂洗步骤 适合批量处理样品	操作简单,适合批量处理样品

& 试剂盒中包含的裂解液可作为样品保护液,样品浸泡于保护液中室温放置 3 个月不影响提取效果;

建议采样前事先将 0.6-1 ml 保护液分装于 2ml 离心管或冻存管,根据口腔拭子规格大小调整试剂体积,保证样品充分浸泡在保护液中。

! 如使用自备的保护液,请联系技术支持。

□ DNA 产量与拭子材质和采样方式有关,以拭子中浸润 100 µl 唾液为例。

⊙ DK613 和 DK805 试剂会溶解海绵,影响 DNA 提取。

二、试剂盒组成和储存

组成内容	DK805-96-2	原理与用途
Proteinase K [*]	1 ml × 2	降解蛋白
Buffer SL	60 ml × 2	裂解细胞、释放 DNA
Buffer GBR	120 ml	调整 DNA 结合条件
Buffer WAG	120 ml	洗涤去除蛋白
Buffer WB1 [§]	65 ml	洗涤去除盐
96 DNA 吸附板-C15	2 块	选择性吸附 DNA
96 深孔板 (2.2 ml)	6 块	接收废液
96 U 型板	2 块	接收洗脱的 DNA
不干胶片	8 张	密封 96 孔板
TE [※]	30 ml	洗脱 DNA
说明书	1 份	

* Proteinase K: 20 mg/ml, 室温保存。可能会析出白色粉末状、絮状或者晶体状不溶物,不影响使用效果,使用前混合均匀。

§ Buffer WB1: 第一次使用前按试剂瓶所示体积加入无水乙醇,混合均匀。

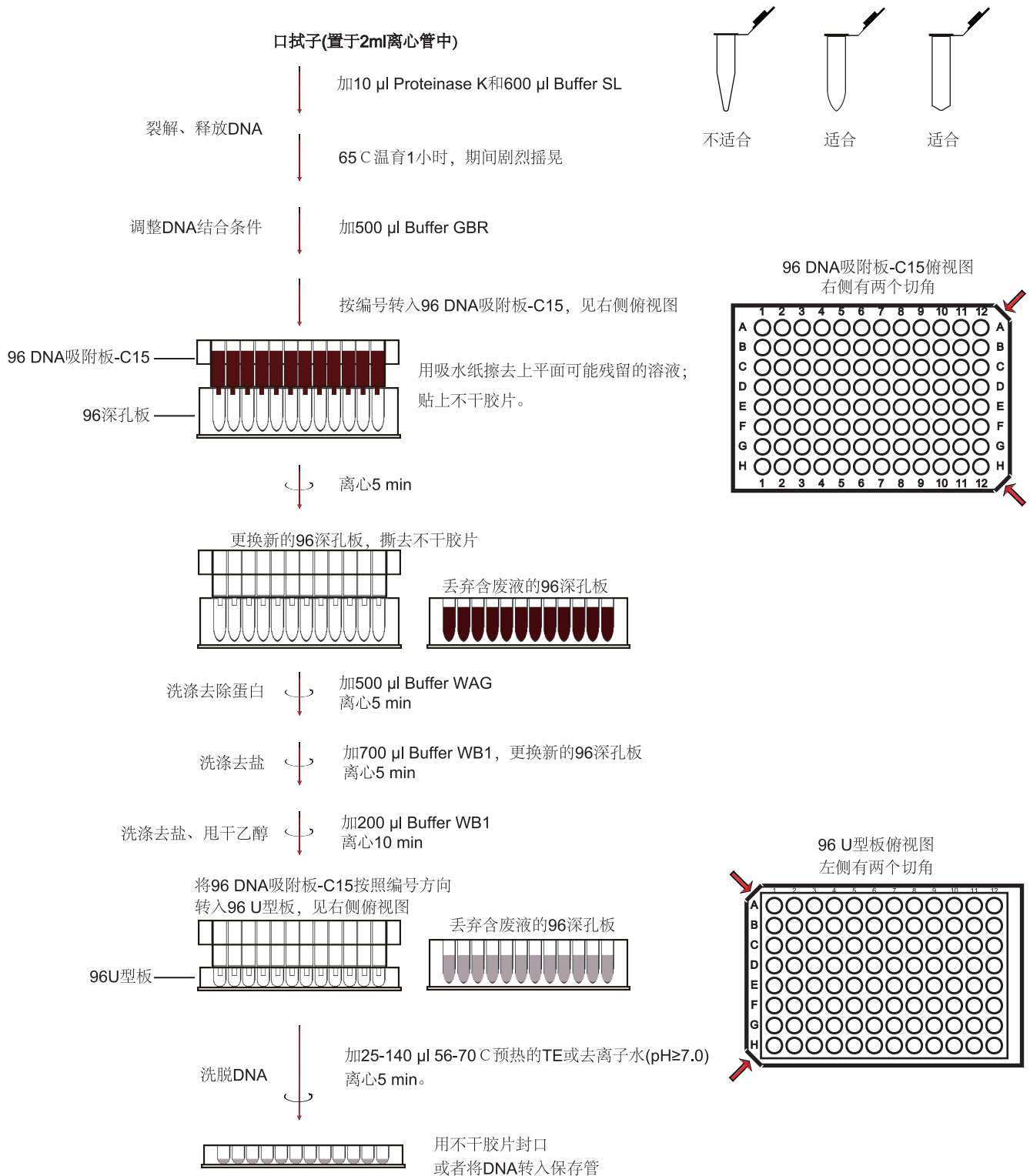
※ TE: 10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, 0.025% NaN₃, pH 8.0(25°C)。

试剂盒所有组成成分均于室温储存。

三、注意事项

1. Buffer SL、Buffer GBR 和 Buffer WAG 含刺激性化合物，避免沾染皮肤、眼睛和衣服、谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛，立即使用大量水或生理盐水冲洗沾染处，必要时寻求医疗咨询。
2. 每次使用后应及时盖紧试剂瓶，以免影响下次使用效果，尤其是 Buffer GBR、Buffer WAG 和添加乙醇后的 Buffer WB1。
3. 用口腔拭子取样前 30 分钟内，被取样者应清洁口腔，并且不能进食或饮用除水之外的饮料，以免污染样品。

四、操作流程示意图



五、实验准备

1. 65℃水浴或温箱；56-70℃预热 TE 或去离子水（pH≥ 7.0）。
2. 第一次使用前，按试剂瓶所示体积在 Buffer WB1 中加入无水乙醇，混合均匀。

六、操作步骤

为了避免样品间交叉污染，步骤 1-3 使用单个离心管操作；

为了方便操作，建议步骤 1-3 使用 96 离心管盒操作，步骤 2 使用温箱加热；

所有离心条件为：吊篮式水平转子，室温 2,500× g；如果离心力偏低，不利于溶液滤过，最终获得的 DNA 有明显的蛋白、盐和乙醇残留；如果离心力偏高，塑料耗材可能会变形甚至破裂。计速为 rpm 的离心机，按公式计算所需转速：

$$\text{转速(rpm)} = \frac{15007}{\sqrt{R}} \quad R \text{ 为转子半径, 单位 cm.}$$

如果吊篮式水平转子底部不平整，应在底部垫上合适尺寸、平整的铁板或者塑料板。

1. 样品为口腔拭子置于 2 ml 离心管中，加入 **600 μl Buffer SL** 和 **10 μl Proteinase K**，剧烈摇晃 20 次混合均匀。

使用 2 ml 离心管可保证口腔拭子充分浸泡于试剂中，勿使用 1.5 ml 离心管或尖底冻存管。

为方便操作，可事先将 Buffer SL 和 Proteinase K 按照比例预混；两者混合后需 1 小时内使用完。批量处理样品可直接将试剂盒中的 Proteinase K(1ml) 全部转入 Buffer SL(60 ml)。

可根据口腔拭子规格大小调整 Buffer SL 体积，保证样品充分浸泡于试剂中，需同时调整操作步骤 3 中 Buffer GBR 用量，其余试剂用量不变。

Buffer SL 与 Buffer GBR 比例为 6/5。例如，Buffer SL 体积调整为 750 μl，Buffer GBR 调整为 625 μl。

2. 置于 65℃水浴或温箱 1 小时，温育期间至少剧烈摇晃一次，延长温育时间不影响效果，可以温育过夜。
3. 加入 **500 μl Buffer GBR**，用力摇晃 10 次混合均匀（！请勿离心）。

Buffer GBR 含指示剂，方便观察加样和步骤 4 溶液转移。后续步骤能彻底去除指示剂。

4. 将 **96 DNA 吸附板-C15** 置于 **96 深孔板** 上，将步骤 3 中的溶液按编号转入 **96 DNA 吸附板-C15** 对应的孔中，保留口腔拭子于离心管中；

如果 **96 DNA 吸附板-C15** 上平面沾染溶液，用干净的吸水纸擦干，贴上不干胶片。

！转移溶液时避免交叉污染。

5. 将 **96 DNA 吸附板-C15** 连同 **96 深孔板** 放入吊篮式水平转子，离心 5 min；将 **96 DNA 吸附板-C15** 转入另外一块干净的 **96 深孔板**，撕去不干胶片。
6. 每孔加入 **500 μl Buffer WAG**，离心 5 min。
7. 每孔加入 **700 μl Buffer WB1**，离心 5 min；将 **96 DNA 吸附板-C15** 转入另外一块干净的 **96 深孔板**。
8. 每孔加入 **200 μl Buffer WB1**，离心 10 min。
9. 将 **96 DNA 吸附板-C15** 按照编号方向转入 **96 U 型板**，每孔加入 25-140 μl 56-70℃预热的 TE 或去离子水(pH≥ 7.0)，离心 5 min。

加入洗脱液体积为 25-100 μl，需将洗脱液准确加在硅胶膜中央；加入洗脱液体积为 100-140 μl，无需注意加样的位置。

56-70℃预热 TE 或者去离子水(pH≥ 7.0)，可以提高洗脱效率。

如果使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至≥ 7.0。

再次加入≥ 25 μl TE 或去离子水洗脱，可以提高洗脱效率。但洗脱总体积不可超过 140 μl，不然 **96 DNA 吸附板-C15** 底部会接触液面。