

Ver.20190821.3版

广州艾基生物技术有限公司

【产品名称】

通用名称:核酸提取或纯化试剂

英文名称: Saliva & Swab DNA Extraction Kit

【包装规格】50人份/盒、100人份/盒、300人份/盒、1000人份/盒【预期用途】用于核酸的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物用

于临床体外检测使用。

【实验原理】

本试剂盒适用于从唾液或者各类型拭子样本中提取基因组DNA。试剂盒采用独特作用的磁珠和缓冲液系统,磁珠表面修饰有特殊化学基团,在一定条件下对DNA具有分离的富集能力,当条件改变时可以可逆的释放DNA,从而达到快速分离纯化DNA的作用并可最大限度的去除蛋白质等杂质,从而保证提取核酸的纯度。

【主要组成成分】

组成成分	CZ610-S (50T)	CZ610-M (100T)	CZ610-L (300T)	CZ610-H (1000T)
蛋白酶K溶液	1mL	2mL	6mL	20mL
裂解液SSL	15mL	30mL	100mL	450mL
磁珠悬浮液	1mL	2mL	6mL	20mL
清洗液1	30ml	60ml	125ml×2	250ml×2
清洗液2	18ml	36ml	72ml×2	150ml×2
洗脱液	5mL	10mL	30mL	100mL

【储存条件及有效期】

蛋白酶K: -20℃:长期保存,避免反复冻融,融化后4℃保存,并尽快使用;磁珠悬浮液:2-8℃保存;其它组分:室温保存。

【适用仪器】全自动核酸提取仪、磁力架

【**样品要求**】本产品适用于唾液中脱落细胞的DNA以及唾液中细菌 DNA的提取,唾液采集推荐使用本公司唾液采集器(货号:F120-S), 拭子类样本请采集后低温运输,样品长时间储存请储存-20℃。

1.实验前准备:

- 1.1. 实验前请准备好60℃的水浴锅或金属浴、涡旋振荡、器掌心离心机、涡旋仪、磁力架、1.5ml、2ml离心管等试剂盒内没有提供的设备和耗材。
- 1.2. 按标签所示,向清洗液1、2内加入相对应量的异丙醇、无水乙醇,混匀后备用。并在对应的 ___ 打上勾,标记加入异丙醇和乙醇,避免重复添加。

表1.清洗液1

	CZ610-S (50T)	CZ610-M (100T)	CZ610-L (300T)	CZ610-H (1000T)
清洗液1	30ml	60ml	125ml×2	250ml×2
异丙醇	30ml	60ml	125ml×2	250ml×2

表2.清洗液2

	CZ610-S (50T)	CZ610-M (100T)	CZ610-L (300T)	CZ610-H (1000T)
清洗液2	18ml	36ml	72ml×2	150ml×2
无水乙醇	42ml	84ml	168ml×2	350ml×2

- 2. 样本处理 (含3种样本类型 (2.1 干拭子、2.2 含保存液的拭子、2.3 唾液样本)按照如下处理方式,对相应样本类型处理)
- **2.1干拭子**:将拭子转移至2mL的离心管中,用剪刀将棉签部分从其杆上剪下,加入200μl的PBS溶液,剧烈震荡,确保细胞从拭子上脱落,进入**步骤3**。

(此处若棉签吸水过多,可适当的多加入 200μl ~ 400μl的PBS,以确保能够从拭子上洗下脱落细胞,保证足够的DNA量)

2.2 含保存液的拭子:将保存拭子的管子剧烈震荡30sec,确保细胞从拭子上脱落,取300 µL加入到2.0mL EP管中,进入**步骤3**。

2.3 唾液样本

剧烈震荡30sec,确保样品混匀,将唾液样本充分混匀,取300 μL加入到2.0mL EP管中,进入步骤3。

注:若需去除RNA,请在上述混合液中加入20μL RNase A溶液(10mg/mL)。

3.样本裂解

向离心管中加入裂解液SSL 300μl,蛋白酶K 20μl 涡旋混匀,60℃裂解30min(<u>干拭子样本裂解后,需要将拭子取出丢弃</u>)。

4.核酸结合

向裂解完毕液离心管中加入300μL 异丙醇 和 20μL磁珠悬浮液 (使用前摇晃均匀),高速涡旋震荡5min。

5.磁性分离

将离心管置于磁力架上静置20 s至磁珠吸附完全(如离心管内盖有磁珠液残留,可保持离心管在磁力架上,整体上下颠倒2~3次至磁珠被完全吸附),吸弃上清液。

6淸洗

- 1)向离心管中加入500µL淸洗液1,涡旋震荡2min打散磁珠,参照步驟5进行磁性分离、去上淸;
- 2) 重复使用清洗液1漂洗一次。
- 3)使用500 µL清洗液2,参照步骤6(1)操作2次;

7.除醇

将除尽上淸液后EP管同磁力架一并置于45℃真空干燥箱中,干燥5 min。

注:亦可置于通风厨通风或电风扇直吹约5 min , 具体以磁珠干透无乙醇味为准。

8.核酸洗脱

向离心管中加入50~100 μL洗脱液,吹散磁珠,60℃温浴10 min. 每隔3min涡旋振荡30s(一般情况下,<u>拭子样本</u>50 μL洗脱,唾液样 本100 μL洗脱,可以选择提前预热洗脱液至60℃,直接洗脱)。

9.核酸转移

将离心管置于磁力架上至磁珠吸附充全,将洗脱液转移至干净的离心 管中,提取过程完毕。

【检验方法的局限性】

本试剂得到的DNA可以使用Nanodrop系列紫外分光光度计测量,由于提取纯化过程中,因操作不当可能残留盐离子、乙醇等物质而导致吸光度偏高,建议使用Qubit系列仪器进行准确检测定量。

【注意事项】

- 1.另外需要自己准备无水乙醇、 异丙醇、RNase A溶 (10mg/mL)。
- 2.使用前需按照瓶身标签说明向清洗液1和清洗液2中加入异丙醇、乙醇,稀释备用;
 - 3.建议使用新鲜样本进行提取,样本反复冻融导致核酸得量明显降低;
 - 4.请仔细阅读本说明书,并严格按照操作步骤完成操作。

【参考文献】

Yung, H. (2010) Rapid and direct DNA extraction from saliva for personalized medicine.

Jaroslava Durdiaková (2012) Comparison of different collection procedures and two methods for DNA isolation from saliva.



