

版本号: DP121221

# TIANamp Swab DNA Kit

## 口腔拭子基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP322

### 产品内容

产品组成	DP322-02 (50 preps)	DP322-03 (200 preps)
缓冲液GA (Buffer GA)	30 ml	2 × 50 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	30 ml	2 × 50 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	13 ml	52 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml	30 ml
Proteinase K	1 ml	4 × 1 ml
吸附柱CR2 (Spin Columns CR2)	50个	200个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个	200个
离心管 (1.5 ml) (Centrifuge Tubes 1.5 ml)	50个	200个

### 选配试剂

RNase A (100 mg/ml) (目录号: RT405-12); Carrier RNA (目录号: RT416)

### 储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于 2-8°C。2-8°C 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

---

## 产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

## 提取得率

材料	提取量	DNA得量
口腔拭子	1个	0.5-3.5 $\mu$ g

**注意事项** 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 若缓冲液GA或GB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，摇匀后使用。
  2. 所有离心步骤均使用台式离心机，室温下离心。
-

---

## 操作步骤

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

取样方式：使用棉签在面颊内擦拭10次。

注意：为了保证样本不被食物或者饮料污染，取样前 30 min内请勿进食和饮水。

### 1. 处理材料：

将在面颊内擦拭过的棉签转置于2 ml离心管中，用剪刀将棉签部分从其杆上剪下，加入400  $\mu$ l缓冲液GA。

**注意：**如果需要去除RNA，可加入4  $\mu$ l RNase A（100 mg/ml）溶液（客户自备，目录号：RT405-12），振荡15 sec，室温放置5 min。

2. 加入20  $\mu$ l Proteinase K溶液，涡旋10 sec混匀，56 $^{\circ}$ C放置60 min，其间每15 min涡旋混匀数次。

3. 加入400  $\mu$ l缓冲液GB，充分颠倒混匀，70 $^{\circ}$ C放置10 min。此时溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的液滴，然后挤压去除拭子，将尽可能多的裂解液转移至新的离心管中。

**注意1：**加入缓冲液GB时可能会产生白色沉淀，一般70 $^{\circ}$ C放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。

**注意2：**如果由于拭子上细胞数少导致提取的基因组DNA少于1  $\mu$ g，可以在添加缓冲液GB的同时添加Carrier RNA（客户自备，目录号：RT416）。

4. 加200  $\mu$ l无水乙醇，充分颠倒混匀，简短离心以去除管盖内壁的液滴。

**注意：**加入无水乙醇后可能会出现絮状沉淀，但不影响DNA提取。

5. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱CR2中（吸附柱CR2放入收集管中），12,000 rpm (~13,400  $\times$ g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR2放回收集管中。

6. 向吸附柱CR2中加入500  $\mu$ l缓冲液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400  $\times$ g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR2放回收集管中。

---

- 
- 向吸附柱CR2中加入600  $\mu\text{l}$  漂洗液PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR2放回收集管。
  - 重复操作步骤7。
  - 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CR2室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

**注意：**这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

- 将吸附柱CR2转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50  $\mu\text{l}$  洗脱缓冲液TB，室温放置2-5 min，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min。

**注意：**洗脱缓冲液体积不应少于20  $\mu\text{l}$ ，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱CR2中，室温放置2 min，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min。洗脱液的pH对于洗脱效率有很大影响。若用ddH<sub>2</sub>O做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}\text{C}$ ，以防DNA降解。

## DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD<sub>260</sub>处有显著吸收峰，OD<sub>260</sub>值为1相当于大约50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 双链DNA、40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 单链DNA。

OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH<sub>2</sub>O，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

---