

HiPure Swab DNA Kit

拭子 DNA 试剂盒

本产品为拭子和唾液样品的 DNA 提取提供了一个简单快速的解决方案。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀。得到的 DNA 可直接用于 PCR、Southern blot、病毒 DNA 检测等实验。

产品组份

产品编号	D3131-01	D3131-02	D3131-03	D3131-04
纯化次数	10 次	50 次	250 次	500 次
HiPure DNA Mini Columns V	10	50	250	500
2ml Collection Tubes	10	50	250	500
Buffer ATL	10 ml	30 ml	150 ml	300 ml
Buffer AL	10 ml	30 ml	150 ml	300 ml
Buffer GW1*	6.6 ml	13 ml	66 ml	132 ml
Buffer GW2*	6 ml	20 ml	50 ml	100 ml
Proteinase K	6 mg	12 mg	60 mg	120 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	1.8 ml	5 ml	15 ml
Buffer AE	5 ml	15 ml	30 ml	60 ml

保存条件

本产品室温(15~25℃)可保存 18 个月。Proteinase K 干粉室温运输和保存，长期保存(>6 个月)建议保存于-20~8℃。溶解后的 Proteinase K 需保存于-20~8℃。低温下，Buffer ATL/AL 可能会有沉淀形成，需 55℃ 水浴让沉淀完全溶解。

准备事项

- 55°C和70°C水浴锅
- 溶解 Proteinase K (20mg/ml): 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 溶解 Proteinase K 至终浓度为 20mg/ml, 轻轻颠倒让蛋白酶 K 充分溶解。Proteinase K 干粉可在室温或 2-8°C 保存一年, 但溶解的 Proteinase K 须保存于-20~8°C。
- Buffer GW1 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer GW2 使用前, 须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
- 拭子的收集: 取样者在 30 分钟内不要进食或饮水。用拭子在口腔内左右脸颊内侧各用力来回刮 6-10 次收集口腔细胞。取样后室温干燥至少 2 小时。
- 唾液收集: 取样者在 30 分钟内不要进食或饮水。用 15~50ml 采集 1~2ml 唾液, 立即保存于-20 度, 或加入等倍体积的 Buffer ATL 混匀后, 室温保存 1~2 个月。

实验步骤

A: 拭子样品

1. 转移拭子至 2ml 离心管中。处理 Omni Swab 时, 在离心管中压住手柄和头部, 使头部弹出; 处理一般的棉签或 DacRoN 拭子时, 需剪去手柄并将头部放入离心管中。
2. 加入 400 μ l (棉签或 DacRoN 拭子)或 500 μ l (Omni 拭子) Buffer ATL 和 10 μ l Proteinase K 至样品中。涡旋混匀, 55°C水浴 15~30 分钟。
3. 加入 400 μ l (棉签或 DacRoN 拭子)或 500 μ l (Omni 拭子) Buffer AL 至样品中, 涡旋 15 秒混匀, 70°C水浴 10 分钟。
4. 用镊子小心去除棉签。
5. 加入 400 μ l (棉签或 DacRoN 拭子)或 500 μ l (Omni 拭子)无水乙醇至样品中, 涡旋 15 秒混匀。按第 6 步进行操作。
若混合液体积有明显变化, 乙醇要相应改变。乙醇加入量按混合液的 0.5 倍加入。

B: 唾液/血浆等样品

1. 在2.0ml 离心管中，加入 10 μ l Proteinase K。
2. 转移 500 μ l 唾液或血浆等液体样品至装有 Proteinase K 的离心管中，55 $^{\circ}$ C水浴 30 ~60分钟。
3. **加入 500 μ l Buffer AL 至样品中**，涡旋混匀 15 秒。70 $^{\circ}$ C水浴 10 分钟。
4. **加入 500 μ l 无水乙醇**，涡旋混匀 15 秒，按第 5 步进行操作。

过柱结合

5. 把DNA 柱装在收集管中，**转移一半混合液至柱子中**，10,000 \times g 离心 30~60 秒。
6. 倒弃滤液把柱子装回收集管，转移剩余混合液至柱子中，10,000 \times g 离心 30~60 秒。
重复这一步直至所有混合液转移至柱子中并离心。
7. (可选)倒弃流出液，把柱子重新装回收集管中，**加入 500 μ l Buffer GW1(已用乙醇稀释)至柱子上**，10,000 \times g 离心 30~60 秒。
8. 倒弃流出液，把柱子重新装回收集管中。**加入 650 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)至柱子中**，10,000 \times g 离心 30~60 秒。
9. 倒弃流出液，把柱子重新装回收集管中。10,000 \times g 离心空柱 2 分钟。
10. **将柱子转移至新的 1.5ml 离心管**，加入 20~50 μ l Buffer AE **至柱子的膜中央**，室温放置 3 分钟，10,000 \times g 离心 1 分钟。
11. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 2-8 $^{\circ}$ C，长期保存需保存于-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. 柱子堵塞

- **样品裂解不充分:** 样品与 Buffer AL 混匀不充分。重新提取，加入 Buffer AL 后先颠倒混匀 3~5 次，然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer AL 充分混匀。
- **Proteinase K 活性下降:** 重新制备 Proteinase K。使用后 Proteinase K 必须保存于 $-20\sim 8^{\circ}\text{C}$ 。Proteinase K 与 Buffer AL 不能预先混合。
- **样品含固体颗粒:** 在第四步加入乙醇前， $10,000 \times g$ 离心 3 分钟去除未消化的杂质，转移上清液至新的离心管后再加入乙醇。
- **样品用量太多:** 白膜层、浓缩血液、细胞悬液中含大量的细胞，减少样品量。

2. DNA 纯度不达标

- 参考柱子堵塞部分。
- **样品裂解不充分:** 样品与 Buffer AL 混匀不充分。重新提取，加入 Buffer AL 后先颠倒混匀 3~5 次，然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer AL 充分混匀。
- 对于灵敏的运用，用 Buffer DW2 清洗两次。

3. DNA 产量低

- 参考柱子堵塞部分。
- 血浆或血清等无细胞体液样品，其 DNA 含量低，通常只有纳克级。
- Buffer DW2 未加入乙醇稀释。
- 第四步加入乙醇后混匀不充分或乙醇加入的体积不够。
- 洗脱不充分：洗脱液需加到膜中央，增加洗脱体积或次数。