

Version: AA 4.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Swab DNA Kit

口腔/咽拭子基因组DNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AA1401

01/产品组分

序号	组分	50次 AA1401-A	50次 AA1401-B
1	平衡液	5 mL	5 mL
2	裂解液 ML	20 mL	20 mL
3	结合液 CB	20 mL	20 mL
4	抑制物去除液 IR	25 mL	25 mL
5	漂洗液 WB	15 mL 第一次使用前加入 60 mL 无水乙醇	
6	Poly Carrier	200 µL	200 µL
7	洗脱缓冲液 EB	15 mL	15 mL
8	蛋白酶 K 溶液 (20 mg/mL)	-	1 mL
9	吸附柱 AC 和收集管	50 套	50 套

02/保存条件

蛋白酶 K 溶液、Poly Carrier 于-20℃保存，其它组分室温（15-25℃）保存。

03/产品概述

本试剂盒适合于从口腔/咽拭子中分离纯化基因组 DNA，整个过程简单方便，可在 2 h 内完成单个或多个样本的提取工作。本试剂盒采用特制的进口 DNA 吸附柱和独特的缓冲液系统，各种来源的样品裂解消化处理后，DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜（特别配备了 Poly Carrier 可以从体系中轻松捕获微量核酸），再通过一系列快速的漂洗、离心步骤，将盐、细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净的基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。一般 1 个口腔拭子可提取 0.5-3.5 µg DNA，

纯化后的 DNA 无杂质和 PCR 抑制剂，可直接用于 PCR 分析。

04/自备材料

无水乙醇、医用棉签（用于取样）

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）下进行。
- ◇ 开始实验前根据需要将水浴预热备用。
- ◇ 结合液 CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却至室温即可使用。
- ◇ 结合液 CB 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
- ◇ Poly Carrier 使用方法：如果起始处理量很少（口腔咽拭子上收集到的细胞很少），推荐使用 Poly Carrier，如果预期有较大量 DNA 产量，用户可以根据需要选择是否加入 Poly Carrier。使用时在每个样品提取所需 400 μL 结合液 CB 中加入 4 μL Poly Carrier，将结合液 CB 与 Poly Carrier 溶液充分颠倒混匀即可（结合液 CB 容易起泡沫，请勿使用涡旋振荡混匀）。也可根据样品数量，在总共需要的结合液 CB 中加入总共需要的 Poly Carrier 混匀备用。混合液在室温 24 h 内稳定。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化等影响，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
- ◇ 首次使用前请先在漂洗液 WB 中加入无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
- ◇ 取样：取一根医用消毒棉签（手不要碰触脱脂棉部位），伸进口腔，紧靠脸颊内侧来回刮拭 20 次（不时旋转棉棒），需充分接触口腔粘膜。
- ◇ 注意事项：避免用手触及棉签，采集前可先用清水轻轻漱口。为防止样本被食物或者饮料污染，取样前 30 min 内应该避免进食或者饮水。
- ◇ 关于平衡液的使用：取一个新的硅胶膜吸附柱装在收集管中，取 100 μL 的平衡液至吸附柱中。12,500 rpm (14,500×g) 离心 1 min，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管。此时平衡液预处理吸附柱完毕。平衡液在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37℃使沉淀完全消失。

06/使用方案

1. 用剪刀将棉签部分从其杆上剪下，放入 2 mL 离心管中，加入 400 μL 裂解液 ML。



2. 再加入20 μL 的蛋白酶K（20 mg/mL）溶液，立刻涡旋振荡充分混匀。

▲可选步骤：56°C放置1 h，期间每10 min涡旋混匀10 s。一般情况下该步骤可以省略，除非效果不好，再尝试加做此步骤。

3. 加入400 μL 结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀，70°C放置10 min，此时溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁液滴，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。

▲如果拭子上细胞数量少，导致提取的基因组DNA产量过低，可以在400 μL 结合液CB中加入4 μL Poly Carrier。

4. 冷却后加入200 μL 无水乙醇，立刻涡旋振荡充分混匀。简短离心以除去管盖内壁的液滴，收集所有的液体到管底。

▲如果周围环境高于25°C，乙醇需要冰上预冷后再加入。

5. 将上一步混合物加入一个平衡液处理过的吸附柱AC中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心30-60 s，弃废液。

6. 加入500 μL 抑制物去除液IR，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心30 s，弃废液。

7. 加入600 μL 漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心30 s，弃废液，重复此步骤一遍。

8. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,500 rpm（14,500 $\times$ g）离心2 min，尽量除去漂洗液。

9. 取出吸附柱AC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加20-50 μL 洗脱缓冲液EB（事先在65-70°C水浴中预热效果更好），室温放置1 min，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心1 min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置1 min，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心1 min。

▲洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要DNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于20 μL ，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。

10. DNA可以存放在2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在-20°C。

07/流程简图



裂解：用剪刀将棉签部分从其杆上剪下，放入2 ml离心管中，加入400 μ L裂解液ML



去蛋白：20 μ L蛋白酶K，56°C放置1 h，400 μ L结合液CB
4 μ L Poly Carrier 70°C放置10 min



结合：200 μ L无水乙醇，混匀，100 μ L平衡液至吸附柱AC
将混合物加入预处理的吸附柱AC，13,400 $\times$ g离心30-60 s



去抑制物：500 μ L抑制物去除液IR，13,400 $\times$ g离心30 s
去盐离子：600 μ L漂洗液WB(检查是否已加入无水乙醇!)
13,400 $\times$ g离心30 s，两次
去残留乙醇：14,500 $\times$ g空甩2 min



洗脱：20-50 μ L洗脱液EB（65-70°C预热）
室温静置1 min，13,400 $\times$ g离心1 min
可重复洗脱一次，长期储存-20°C

08/相关产品

AA1906 蛋白酶K（10 mg/mL）

AC1706 Poly Carrier 核酸助沉剂

AC1707 Glycogen 核酸助沉剂

AC1709 RNase Free and DNase Free纯水

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

