**口腔拭子基因组DNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2608**

**■ 产品简介：**

本产品是适用于口腔黏膜上皮细胞基因组DNA提取的试剂盒。其作用原理是在裂解液KS的作用下裂解细胞，释放出基因组DNA，通过离心去除细胞碎片和蛋白质，在缓冲液GA1的作用下基因组DNA选择性的吸附在硅基质膜上，通过漂洗液的清洗去除多余杂质，最后在洗脱液的作用下使基因组DNA从硅基质膜上洗脱下来，即获得高质量的基因组DNA。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2608（50次）** |
| 裂解液KS | 25 ml |
| 缓冲液GA1 | 25 ml |
| 漂洗液PD | 12 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 蛋白酶K | 500 µl |
| 吸附柱C1（含2 ml收集管） | 50个 |

**■ 保存条件**：

室温（15-25℃）

**■ 自备试剂**：

无水乙醇，RNase A（10 mg/ml）。

**■ 注意事项：**

1． 若裂解液KS出现沉淀，可在37℃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，室温下操作。

**■ 操作步骤：**

1. 取样：使用纯净水漱口2-3次，采用口腔拭子在口腔内壁擦拭8-10次，晾干2 h保存。
**注意：为确保样本不受食物或饮品污染，取样前30 min内请勿进食和饮水。**
2. 用剪刀将含有样本的口腔拭子的棉签部分剪下置于1.5 ml离心管中，加入400 µl裂解液KS。
**注意：如需去除RNA，可向离心管加入20 µl RNase A（10 mg/ml）。**
3. 向离心管中加入10 µl蛋白酶K溶液，震荡混匀，65℃水浴30 min，其间混匀数次。
4. 加入400 µl缓冲液GA1，充分颠倒混匀，65℃放置3-5 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GA1时可能会产生白色沉淀，一般65℃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 µg，可以在添加缓冲液GA1的同时添加Carrier RNA**
5. 向离心管中加入200 µl无水乙醇，充分颠倒混匀。将所得溶液加入吸附柱C2中（吸附柱C2放入收集管中），12,000 rpm离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
**注意：吸附柱最大容量为750 µl，需2次加入吸附柱。**
6. 向吸附柱中加入500 µl漂洗液PD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱C2放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入600 µl漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱C2放回收集管中。
8. 重复操作步骤7。
9. 空柱12,000 rpm离心2 min。将吸附柱C2室温放置数分钟，除去残留乙醇。
**注意：漂洗液中的乙醇会影响后续PCR或酶切等酶促反映实验，此处应尽量晾干残留的漂洗液。**
10. 将吸附柱放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位滴加30-50 µl洗脱缓EB，室温放置2 min，12,000 rpm离心2 min洗脱DNA，可立即用于下游分子生物学实验或-20℃保存。

**注意：洗脱体积不应少于30 µl，体积过小会影响回收效率。将洗脱得到的溶液重新加入吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm离心2 min，可增加DNA回收量。若用ddH2O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。**