**口腔拭子基因组DNA提取试剂盒**

**（磁珠法）**

**货号：KTSM2632**

**■ 产品简介：**

本试剂盒采用高特异磁珠从口腔黏膜上皮细胞基因组提取DNA，配备独特的缓冲液体系，可从生物样本中分离纯化高质量的基因组DNA。高特异性磁珠在一定条件下对核酸具有很强的亲和力，改变缓冲液体系，能够使磁珠释放核酸，达到快速高效分离纯化核酸的效果。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2632（50次）** |
| 裂解液KS | 25 ml |
| 缓冲液GA1 | 25 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 蛋白酶K | 500 µl |
| 磁珠悬浮液 | 600 µl |

**■ 保存条件**：

室温（15-25℃）。

**■ 自备试剂**：

无水乙醇，异丙醇，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。

**■ 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400 µl异丙醇和10 µl磁珠悬浮液，振荡混匀10 sec。
**注意：加入磁珠悬浮液之前，请将磁珠悬浮液充分混匀。**
6. 将离心管置于磁力架上吸磁1 min，待磁珠完全吸至管壁之后，使用移液器小心的吸弃上清。
**注意：吸弃上清前，若管口有少量的磁珠悬浮液，请用上清液将其洗至离心管内，以确保所有磁珠悬浮液吸附至管壁上。在吸取上清时请勿吸入磁珠悬浮液，并确保离心管内的上清液吸取干净。**
7. 加入700 µl漂洗液PW，振荡10 sec，将离心管置于磁力架吸磁1 min，待磁珠悬浮液完全吸附至管壁后，吸弃上清
8. 重复操作步骤7。
9. 将离心管开盖室温干燥或放入洁净台风吹10 min，至离心管壁无液体残留。
**注意：干燥前尽量吸弃管内残余液体。**
10. 加入20-30 µl洗脱液EB，65℃水浴5-10 min，其间混匀数次。
**注意：请将管壁上的所有磁珠完全悬浮在洗脱液EB中，根据样本量加入适量洗脱液EB，但最少不要少于20 µl，否则影响洗脱效率。**
11. 将离心管短暂离心后，置于磁力架上吸磁1 min，待磁珠悬浮液完全吸附至管壁后，小心的吸取上清至新的离心管内，即得基因组DNA。

**注意：吸取上清时，请确保磁珠完全吸附于管壁，否则可能带出磁珠，影响产物纯度。**