

# Imagen®

Swab DNA Kit

口腔/咽拭子基因组 DNA 快速提取试剂盒

密码子生物科技有限公司  
<http://www.codonx.com/>

**CODONX**

RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY  
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

# 口腔/咽拭子基因组 DNA 快速提取试剂盒

## 目录号 DE133

### 使用说明书

网站: [www.codonx.com](http://www.codonx.com)  
咨询电话: 010-56315162  
技术支持 QQ: 3090544158

- 1/适用范围
- 2/试剂盒组成、储存、稳定性
- 3/储存事项
- 4/产品介绍
- 5/产品特点
- 6/注意事项
- 7/操作步骤
- 8/问题与解决方法

## 1/适用范围:

适合于从口腔/咽拭子中分离纯化基因组DNA。

## 2/试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50次 (DE133-01)
裂解液 ML	室温	20 ml
结合液 CB	室温	20 ml
抑制物去除液 IR	室温	25 ml
漂洗液 WB	室温	15ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
Poly Carrier	-20℃	200µl
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml
蛋白酶 K 粉 20mg/ml	-20℃	20 mg
吸附柱 DA 和收集管 CT	室温	50 套

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果

## 3/储存事项:

1. 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℃ 水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
2. 为避免降低活性，方便运输，提供蛋白酶 K 为冻干粉状，收到后，可短暂离心后，加入 1ml 灭菌水溶解。因为反复冻融可能会降低酶活性，因此溶解后立即按照每次使用量分装冻存，-20℃ 保存。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

## 4/产品介绍:

本试剂盒采用特制的进口 DNA 吸附柱和独特的缓冲液系统，特别适合于从口腔/咽拭子中分离纯化基因组 DNA。各种来源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 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—离心的步骤，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。纯化后的 DNA 无杂质和 PCR 抑制剂，可直接适用于 PCR 分析。典型产量 0.5µg-3.5µg/拭子。

## 5/产品特点：

1. 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 节省时间，简捷，单个样品操作一般可在 20 分钟内完成。
3. 配备了 Poly Carrier 用于充分收集特别微量 DNA。
4. 多次柱漂洗确保高纯度，提取的 DNA 纯度高，质量稳定可靠，可适用于各种常规操作，包括 PCR、酶切、测序、Southern 杂交等。

## 6/注意事项：

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000rpm的传统台式离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到特定温度备用。
3. 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。**
4. **Poly Carrier:**

**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），我们推荐使用 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 400µl 结合液 CB 中加入 4µl 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 小时内稳定。

## 7/操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

**提示：**第一次使用前请先在 15ml 漂洗液 WB 中加入 60ml 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 分钟内应该避免进食或者饮水。

1. 用剪刀将棉签部分从其杆上剪下，放入 2ml 离心管中，加入 400 $\mu$ l 裂解液 ML。
2. 再加入 20 $\mu$ l 的蛋白酶 K (20mg/ml)溶液，**立刻涡旋振荡充分混匀**，
3. 可选步骤（一般不需要做）：56 $^{\circ}$ C 放置 1 小时，期间每 10 分钟涡旋混匀 10 秒。

**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。**

4. 加入 400 $\mu$ l 结合液 CB，**立刻涡旋振荡充分混匀**，70 $^{\circ}$ C 放置 10 分钟。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。

**棉签的棉花可能还吸附一些液体，如果要提高产量，可以用干净镊子夹挤出液体后弃棉花，减少棉花上液体残留。**

**如果拭子上细胞数量少，导致提取的基因组 DNA 产量低于 1 $\mu$ g，可以在 400 $\mu$ l 结合液 CB 中加入 4 $\mu$ l Poly Carrier。**

5. 冷却后加 200 $\mu$ l 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 $^{\circ}$ C，乙醇需要冰上预冷后再加入。**

6. 将上一步混合物加入一个吸附柱 DA 中，（吸附柱放入收集管 CT 中）12,000rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管 CT 中的废液。
7. 加入 500 $\mu$ l 抑制物去除液 IR，12,000rpm 离心 30 秒，弃废液。
8. 加入 500 $\mu$ l 漂洗液 WB（请先检查是否已加入无水乙醇!），12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
9. 加入 500 $\mu$ l 漂洗液 WB，12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
10. 将吸附柱 DA 放回空收集管 CT 中，13,000rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

11. 取出吸附柱 DA，放入一个干净的离心管中，在**吸附膜的中间部位**加 20—50μl 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65-70℃ 水浴中预热效果更好），室温放置 1 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置 1 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。

**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 20μl，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少 DNA 产量。**

12. DNA 可以短暂存放在 2-8℃，如果要长时间存放，可以放置在一 20℃。

## 8/问题与解决方法

问题	评论与建议
DNA 产量低或者洗脱液中无 DNA	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Poly Carrier 没有加入到结合液 CB-<b>建议</b>：仔细阅读注意事项 4。</li> <li>*样品冻融超过 1 次-<b>建议</b>：尽量使用新鲜样品和冻融不超过 1 次的样品。</li> <li>*样品在室温放置过久-<b>建议</b>：尽快处理样品或者低温适当方式保存。</li> <li>*裂解不完全，蛋白酶 K 失效了-<b>建议</b>：收到蛋白酶 K 后，按照每次使用量分装冻存，避免反复冻融。</li> <li>*结合液 CB 和 Poly Carrier 没有充分混匀-<b>建议</b>：充分涡旋混匀。</li> <li>*试剂和样品没有充分混匀-<b>建议</b>：加入每个试剂后都要充分混匀。</li> <li>*洗脱效率不高-<b>建议</b>：确保做了步骤 9，否则残留乙醇会影响洗脱效率，仔细阅读步骤 13 和只使用洗脱缓冲液 EB 洗脱。</li> </ul>
DNA 的下游反应如 PCR 效果不佳	<ul style="list-style-type: none"> <li>* DNA 产量低或者洗脱液中无 DNA-<b>建议</b>：在下游反应中增加 DNA 用量。</li> <li>* 降低的灵敏度-<b>建议</b>：确定在下游 PCR 应用中 DNA 洗脱液的最大允许用量，减少或者增加 DNA 洗脱液在 PCR 反应中的用量，DNA 洗脱体积也可以相应的调整。</li> </ul>
DNA 下游酶切不能切开或者酶切不完全	<ul style="list-style-type: none"> <li>* 离心柱残留有较多乙醇或者底部不慎沾有乙醇抑制了酶切反应-<b>建议</b>：确保做了步骤 10，然后空气中晾几分钟，让残留乙醇挥发。</li> <li>* 一些硅基质膜成分一起洗脱下来，抑制了酶切反应-<b>建议</b>：将洗脱的基因组 DNA 溶液 13,000rpm 再离心一分钟，小心取上清使用。</li> </ul>

密码子生物科技有限公司  
<http://www.codonx.com/>

**CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd**

Yizhuang Biomedical Park  
Building 6, No.88 6th Kechuang St. Economic- Technological Development Area, Beijing, China  
Tel: 010-56315162 [www.codonx.com](http://www.codonx.com)

