

痰液核酸提取试剂盒

【产品名称】痰液核酸提取或纯化试剂

【包装规格】50 次/盒

【预期用途】用于痰液核酸的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物用于研究检测使用。

【检验原理】本试剂盒提供了一种简单、快速、高效的从痰液中提取 DNA/RNA 的方法。独特的缓冲体系使裂解液中的核酸高效特异地结合在硅胶质离心吸附柱上, 获得的核酸纯度高, 质量稳定, 不含蛋白、核酸酶和其他杂质, 可适用于各种常规操作, 包括 PCR、荧光定量 PCR 等实验。

【包装清单】

序号	产品名称	包装
1	溶液 I(消化液 1)	30 mL
2	溶液 II(消化液 2, 用前加入 3ml 无 RNA 酶的水)	3 mL
3	溶液 III(裂解液)	15ml
4	溶液 IV(漂洗缓冲液 1, 12ml 用前加 18ml 无水乙醇)	12ml
5	溶液 V(漂洗缓冲液 2, 12ml 用前加 18ml 无水乙醇)	12ml
6	溶液 VI(洗脱液)	10 mL
7	纯化柱	50 个
8	废液收集管	50 个
9	说明书	1 份

【储存条件及有效期】

溶液 II (固体) 长期保存应置于 2~8℃。如溶液 II 溶解后未立即用完, 应按每次使用量分装成小份后 -20℃ 保存备用。避免反复冻融造成酶活力下降。其余组分储存在环境温度 -40℃~40℃, 相对湿度不大于 75%, 无腐蚀性气体的避光处。

储存条件: 适合常温运输, 长期保存应置于 2~8℃

有效期: 24 个月。

【适用仪器】小型高速离心机, 水浴锅。

【样本要求】适用的样本有: 痰液。取得样本后, 应尽快提取。如不能及时处理, 应妥善保存。

【检验方法】

使用前准备:

1、阅读说明书, 熟悉操作方法。

自备试剂耗材: 无水乙醇、合适规格的离心管、RNase A 溶液 (10 mg/ml)。

2、首次使用前, 分别向溶液 IV 和 V 瓶中按要求加入无水乙醇, 摇匀后标记备用。

3、每次使用前请检查 溶液 III 是否出现沉淀, 如有沉淀, 请于 65℃ 溶解使用。

4、离心均室温进行。

操作步骤:

1、样本的处理。量取 250 μl 的唾液至 1.5 ml 离心管中。

注意: 为确保样本不被食物或者饮品污染, 一般漱口后 15 min 采集痰液。

2、向离心管中加入 500 μl 溶液 I 和 50 μl 溶液 II, 震荡混匀, 65℃ 水浴 60 min。

注意: 如果需要无 RNA 的基因组 DNA, 可以向离心管中加入 20 μl 10 mg/ml RNase A solution。

3、向离心管中加入 250 μl 溶液 III, 震荡混匀, 然后将全部溶液移至硅胶膜吸附柱内

(吸附柱放入收集管中), 10000 rpm 离心1 min, 倒掉收集管中溶液, 将吸附柱放回收集管中。

注意: 吸附柱的最大容量为750 μ l, 需要过两次吸附柱; 如果后续实验需要核酸浓度不是很高, 可以只过一次吸附柱。

4、向吸附柱中加入 500 μ L 溶液 IV, 10,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

注意: 溶液 IV 使用前请检查溶液是否按比例加入无水乙醇。

5、向吸附柱中加入 500 μ L 溶液 V, 10,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

注意: 溶液 V 使用前请检查溶液是否按比例加入无水乙醇。

7. 将吸附柱放回收集管中, 12000 rpm 离心 2 min。

注意: 此步决不能省略, 否则残留的乙醇会严重影响后续实验。

8. 取出吸附柱, 放入一个新的 1.5 ml 离心管中, 在吸附膜中央加入 30-50 μ l 溶液 VI, 静置 3 min, 12000rpm 离心 2 min, 得到 DNA 溶液置于 -20°C 保存或者直接用于后续实验。

注意: 如果想提高核酸的得率, 可重复步骤 8 或将溶液 VI 60°C 预热。

【常见问题解答】

1. 得率低

a. 痰液不新鲜或者痰液保存不当导致细胞破裂 DNA 降解; 请采用新鲜的痰液, 需要保存时请采用适当的保存液 (可使用本公司的痰液保存液)。

b. 洗脱液不合适。洗脱缓冲液的 pH 值对洗脱效率有影响, 如果使用水进行洗脱, 请确保其 pH 值 > 7.5, pH 值过低可能导致低洗脱效率。

c. 洗脱过程操作不当。请将洗脱液加入到吸附膜的中央位置。

2. 获得的 DNA 条带弥散

a. 样品不新鲜。请尽量选择新鲜的样品。

b. 裂解时间过长。裂解时间不要超过 120 min。

3. 获得的 DNA 断裂、降解

a. 样品没有按照要求保存。请使用新鲜样品, 样品如果因为某些原因必须先行保存, 可以将样品保存于 -70°C 冰箱。

b. 样品反复冻融。需要保存的样品应分割后保存于 -70°C 冰箱, 避免反复冻融, 确保样品的 DNA 未降解。

c. 操作过程过于剧烈, DNA 被机械打断。请严格按照说明书操作。

4. DNA 样品不纯, 抑制或者干扰后续实验反应

a. 乙醇有残留。请完成第二次洗涤之后, 将吸附柱 12000 rpm 2min 空转, 开盖室温干燥几分钟之后再进行洗脱。

5. 利用琼脂糖凝胶电泳检验 DNA 时, 加样孔非常亮

a. 大片段的基因组 DNA 由于难以电泳出加样孔, 会使加样孔非常的亮。

b. 使用的琼脂糖凝胶浓度过高, 建议使用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳。

c. 获得的 DNA 中含有蛋白质等杂质, 建议适当减少样品用量。

北京诺梵生物科技有限公司

主页: <http://www.novinbio.com/>

电话: 400-832-8698