

唾液 DNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

唾液 DNA 纯化试剂盒	5 次制备	50 次制备	250 次制备
Cat. No.	3501005	3501050	3501250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 离心管	5 个	50 个	250 个
Buffer L5	8 ml	50 ml	250 ml
Buffer WA (浓缩液)	1.9 ml	19 ml	90 ml
Buffer WB (浓缩液)	1.5 ml	15 ml	72 ml
Buffer TE	1 ml	12 ml	60 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存

试剂盒如果储存于室温 (15~25℃)，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品贮存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 400~800 μl 新鲜的或者是冷冻贮藏的人唾液中快速分离 (10-15 分钟) 纯化获得 3-15 μg 高纯度基因组 DNA。Buffer L5 中所包含的强烈裂解液可迅速溶解唾液中的口腔上皮细胞，并使释放的 DNA 处于稳定状态。与 Buffer L5 混合后的唾液可在室温运输、存放 15-20 天，DNA 仍然保持无明显降解状态。唾液裂解产物中的 DNA 吸附到纯化柱上后，两种洗涤液高效除去 PCR 抑制物等杂质，DNA 最后用 Buffer TE 洗脱，并可立即用于 PCR 或相关的分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5ml 离心管
3. 移液器吸头
4. 一次性手套及防护用品及纸巾
5. 台式小量离心机 (可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子)
6. 旋涡震荡器
7. 可能需要水浴锅

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
- 2) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤

DNA 提取注意事项：

1. 唾液取样者取样前半小时内请勿进食或饮水，否则会降低DNA的产率。
2. 如果是邮寄获得的唾液采集器中的样本（必须是本公司提供的唾液采集器，即唾液与Buffer L5混合样本），只要邮寄时间超过一天（24小时）的，可直接在1.5 ml离心管中收集800 μ l唾液与Buffer L5的混合液，最高速（ ≥ 12000 rpm）离心1分钟后直接按步骤2）进行操作。

1) 用洁净的一次性水杯收集 1-2 ml 唾液，转移 400 μ l 唾液到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，加入 400 μ l Buffer L5，剧烈摇晃离心管 3—5 次，再旋涡振荡 30 秒混匀。最高速（ ≥ 12000 rpm）离心 1 分钟。

* 收集的唾液必须在半小时内提取 DNA，否则唾液中的 DNA 会开始降解，导致最后提取到的 DNA 有严重的降解。如果收集的唾液不能立即提取 DNA，可将收集的唾液放到-20℃冻存，或者购买我公司的唾液采集器（Cat. No. 3561001）收集保存唾液。

* Buffer L5 与唾液的体积比应尽量精确控制在1:1的比例，否则会影响最终DNA的回收效率。

* 如果要提高 DNA 的产率，可以用两个 1.5 ml 离心管分别收集 800 μ l 同一个取样者的唾液与 Buffer L5 的混合液，并在下一个步骤中滤过同一个核酸纯化柱。通常从 400 μ l 唾液中可获取 3~7 μ g DNA。

2) 将步骤 1) 中的离心上清液倒入核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2ml 离心管中），盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 离心管管底如有沉淀，请勿加入核酸纯化柱中。

* 如果从 1600 μ l 唾液与 Buffer L5 混合液中提取 DNA，请重复步骤 2) 一次。

3) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 700 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 如果加入 Buffer WA 后室温静置 5-10 分钟，可降低最后提取的 DNA 中盐分的残留。

* 滤液无需彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

4) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 800 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

5) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果使用国产离心机或是离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的实验效果。

6) 弃 2ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 80~100 μ l Buffer TE，盖上管盖，室温静置 2 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。

* 如果要提高 DNA 的回收效率，可预先将 Buffer TE 预热至 65℃，加入纯化柱后延长静置时间至 10~15 分钟，大约可以提高 10-20%的 DNA 回收效率。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

7) 弃纯化柱，将 DNA 储存于-20℃备用。