

唾液总 RNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

唾液总 RNA 纯化试剂盒 Cat. No.	5 次制备 4008005	50 次制备 4008050
唾液采集器	5 个	50 个
过滤柱	5 套	50 套
核酸纯化柱	5 套	50 套
Buffer WA (浓缩液)	1.9 ml	19 ml
Buffer WBR (浓缩液)	1.5 ml	15 ml
RNase-free Water	1.5 ml	2 ml×2
说明书	1 份	1 份

产品储存

产品如果储存于常温 (0~30°C)，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°C，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

本产品适合从人唾液中快速 (15-20 分钟) 分离纯化获得 1-2 μg 高纯度总 RNA (包括唾液中可能含有的病毒 RNA)。特别人性化设计的唾液采集器中的裂解液，可迅速溶解唾液中的口腔上皮细胞，并使释放的核酸处于稳定状态。与裂解液混合后的唾液可在 -20°C 存放 30 天以上，RNA 仍然保持无明显降解状态；如果将混合液存放至 -80°C，1 年内均可提取到高质量的总 RNA。唾液裂解产物中的基因组 DNA 和食物残渣被过滤柱除去后，在滤液中加入乙醇，促使 RNA 吸附到核酸纯化柱上，两种洗涤液高效除去 PCR 抑制物等杂质，RNA 最后用 RNase-free Water 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. RNase-free 1.5 ml 离心管和 RNase-free 带滤芯吸头
3. 一次性手套、口罩及防护用品及纸巾
4. 台式小量离心机 (可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子)
5. 旋涡振荡器
6. 不使用 RNA 酶的实验室

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。
3. 由于唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，请在 RNA 提取的全过程中都戴口罩和乳胶手套。

操作步骤

1. 唾液取样流程：

让唾液取样者向唾液采集器中吐 1 ml 唾液（见离心管上的标识）。收集完唾液后立即打开装有唾液保存液的 5 ml 离心管（粉红色盖子），将所有唾液保存液倒入唾液采集器中。随后将唾液采集器顶部的接液头逆时针旋转取下丢弃，将蓝色盖子盖上 5 ml 离心管并旋紧后，立即用力混合数次，室温静置 5 分钟，将样本冻存到 -20°C 或者 -80°C，或者立即进行后续的 RNA 提取步骤。

注意事项：

* 唾液取样者取样前半小时内请勿进食或饮水，否则会降低 RNA 的产率。

* 如果是冻存的样本，请确保样本完全解冻后并混匀，再进入步骤 2 的操作。

2. 吸取 800 μ l 唾液与保存液的混合物加入到过滤柱中，最高速 (≥ 13000 rpm) 离心 5 分钟。

* 此步骤是为了去除基因组 DNA 和食物残渣等不溶物。如果离心后仍有液体残留在过滤柱中，可延长离心时间直至液体全部滤过过滤柱。

* 如果要提高 RNA 的产量，可以用同样的方法再获取 800 μ l 同一个样本的过滤液，并在下一个步骤中同样加入无水乙醇，并滤过同一个核酸纯化柱。通常从 800 μ l 唾液与保存液的混合物中可获取 1-2 μ g 左右的总 RNA。

* 额外需要的过滤柱可单独订购 Simgen Cat. No. 7501050。

* 剩余的唾液与保存液的混合物可放到 -20°C 暂存或 -80°C 长期保存。

3. 弃过滤柱，向滤液中加入 500 μ l 无水乙醇，勿弃吸头，直接用吸头吸注 6~8 次混匀，吸取 700 μ l 混合液到核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

4. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，将步骤 3 中剩余的混合液全部倒入核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 滤液无须彻底弃尽，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 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

5. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 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。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

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

* 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。

7. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，最高速 (≥ 13000 rpm) 离心 1 分钟。

* 如果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。

8. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个 RNase-free 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 50 μ l RNase-free Water，盖上管盖，室温静置 2 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。

* 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。

9. 弃纯化柱，洗脱的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于 -70°C 以下备用。