

## 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	5 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

产品储存于常温 (0~30°C)，可在两年内保持使用性能无明显变化。

### 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](mailto:technical@simgen.cn), 电话：  
400-0099-857。

### 产品介绍

本产品适合从 400~800  $\mu$ l 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 1-15  $\mu$ g 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 抑制剂等杂质，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、移液器及吸头
3. 一次性手套及防护用品及纸巾
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. 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°C。
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做好“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. 如果是唾液采集器中的样本或已经加入唾液 DNA 保存液的样本[必须是本公司提供的唾液 DNA 采集器(Cat. No.: 3521001)或唾液 DNA 保存液(Cat. No.: 3522100)]，可直接吸取 400  $\mu$ l 混合液到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，加入 400  $\mu$ 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( $\geq$ 12000 rpm)离心 1 分钟后进入步骤 2 操作。
1. 用洁净的一次性水杯收集 1-2 ml 唾液，转移 400  $\mu$ l 唾液到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，加入 400  $\mu$ 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( $\geq$ 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°C 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  $\mu$ 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  $\mu$ l 唾液中可获取 1~7  $\mu$ g DNA。
2. 将离心上清液倒入核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 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  $\mu$ l 唾液与 Buffer L5 混合液中提取 DNA，请重复步骤 2 一次。
3. 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  $\mu$ 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 2 ml 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 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  $\mu$ 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 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14000 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。
6. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 80~100  $\mu$ 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°C，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，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于 -20°C 备用。