

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
Cat. No.	3521005	3521050
唾液采集器	5 个	50 个
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	19 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	15 ml
Buffer TE	1 ml	12 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

试剂盒储存于常温（0~30℃），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, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从人唾液中快速（10-15 分钟）分离纯化获得 1-15 µg 高纯度、大片段基因组 DNA。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 DNA 处于稳定状态。与裂解液混合后的唾液可在室温条件下运输、存放 15 天以上，DNA 仍然保持无明显降解状态；如果将混合液存放到 2-8℃，2 年内均可提取到高质量的基因组 DNA。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. 1.5 ml 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℃。
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。

唾液取样流程

1. 要求唾液取样者取样前半小时内勿进食或饮水，否则会降低 DNA 的产率。
2. 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，立即用力混合数次，将样本冻存到 2-8°C，或者进行后续的 DNA 提取步骤。

操作步骤

DNA 提取注意事项：

唾液保存液与唾液混合后有一个 DNA 的释放过程，如果混合物是立即用于 DNA 提取的，应先将混合物在旋涡振荡器上剧烈振荡 30 秒后再提取 DNA，以确保唾液 DNA 的充分释放。如果是邮寄获得的唾液与裂解液混合样本，只要邮寄时间超过一天（24 小时）的，即可省略剧烈振荡步骤，直接按步骤 1 进行操作。

1. 在 1.5 ml 离心管中加入 800 μ l 唾液与裂解液的混合物，最高速 (≥ 12000 rpm) 离心 1 分钟。

* 此步骤是为了沉淀去除食物残渣等不溶物。

* 如果为了提高 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裂解液的混合液，并在下一个步骤中滤过同一个核酸纯化柱。通常从 800 μ l 唾液混合物中可获取 1~7 μ g DNA。

* 剩余的裂解液与唾液混合物可放到 2-8°C 或更低的温度长期保存。

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 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 μ l 唾液混合物中提取 DNA，请分两次将上清液滤过核酸纯化柱。

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 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 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 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 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。

* 如果为了提高 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。