

## 唾液DNA提取试剂盒

产品货号：26921

产品规格：50T/100T

### 产品简介：

唾液DNA提取试剂盒（Saliva DNA Kit）通过GBC吸附柱从唾液/尿液等液体样品中快速大量纯化高纯度的基因组DNA。本试剂盒采用快速的硅胶柱纯化方式，简化了从唾液、相关体液中分离DNA的步骤。无需苯酚-氯仿抽提、无需分离白细胞。样品经蛋白酶直接消化后，转移至柱子中，DNA特异性结合到硅胶柱上，让污染物流过PCR抑制物如二价阳离子和蛋白，可通过两步有效的洗涤步骤被完全去除，结合在离心柱上的纯DNA可用水或试剂盒中的缓冲液洗脱。该试剂盒允许操作者在20分钟内完成多个样品基因组DNA的提取。纯化的基因组DNA可直接应用于各种下游应用，如PCR、限制性酶切、Southern杂交等。

### 产品组成：

| 产品名称            | 50T    | 100T     | 保存条件 |
|-----------------|--------|----------|------|
| Buffer SL       | 20ml   | 30ml     | 室温   |
| Buffer WB       | 30ml   | 55ml     | 室温   |
| DNA Wash Buffer | 13ml   | 26ml     | 室温   |
| Protease K      | 1.05ml | 1.05ml×2 | -20℃ |
| 纯化柱子            | 50个    | 100个     | 室温   |
| 收集管             | 50个    | 100个     | 室温   |

注：1. Protease K含有50%甘油，吸取时，移液器不能伸得太入，以免吸头外壁带走Protease K。

2. 浓缩的DNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释：50T加入52ml无水乙醇；100T加入104ml无水乙醇。

### 实验前准备：

请详细阅读该手册并熟悉各个步骤，在开始之前准备好所有的试剂盒组分和必需的器材。

### 标准操作步骤：

以下以500μl唾液操作为例，DNA含量低的样品可以适当增加样品量，但以下操作的Buffer SL与无水乙醇的用量要相应增加。

1. 取500μl唾液，加入到2ml离心管中。
2. 加入20μl Protease K(20mg/ml)和500μl Buffer SL，最高速度涡旋15秒充分混匀。如果需要得到无RNA的基因组DNA，每个样品加入5μl RNA酶（10mg/ml）。
3. 65℃水浴10分钟。孵育过程中短暂涡旋管子一次。
4. 加入500μl无水乙醇（96-100%，室温）至裂解液中，最高速度涡旋20秒混匀。将柱子稍微离心以收集盖子上的液滴。
5. 把GBC吸附柱装在在2ml收集管中（已提供），取500μl第4步得到的溶液全部转入柱子中，10,000×g离心1min，倒弃流出液重新套上收集管。
6. 重复第五步操作，转移剩余混合液(包括沉淀)至柱子中，10,000×g离心1min，倒弃流出液重新套上收集管。
7. 加入500μl Buffer WB至柱子中，10,000×g离心1min，弃去流出液。
8. 将GBC吸附柱重新套回2ml收集管中，加入600μl DNA Wash Buffer至柱子中，10,000×g离心1min，倒弃流出液。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

液。

注意：DNA Wash Buffer使用前须要用无水乙醇稀释。如果放入冰箱中，使用前须恢复到室温。

9. 再加入600μl DNA Wash Buffer至柱子中，8,000×g离心1min，弃去流出液。
10. 将GBC吸附柱重新套回2ml收集管中，最大转速(>13,000×g)离心空结合柱1min以干燥柱子的基质；这一步对下面的洗脱步骤至关重要。
11. 将柱子置于1.5ml灭菌离心管，加入30-80μl 65℃预热的TE或灭菌去离子水至柱子的膜中央。室温静置于5min。
12. 室温下，离心(>13,000)1min，以洗脱DNA。保留含DNA的流出液。将DNA储于-20℃。250μl的血液可得的预期DNA产量大约为4~12μg。

注意：为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置2分钟，1,2000rpm离心2分钟。洗脱缓冲液体积不应少于50μl，体积过小影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。

### 储存和稳定性：

唾液DNA提取试剂盒在购买后按以下方式储存可保存至少12个月；Protease K储于-20℃，其它组成储于室温（22-25℃）。SL在低温下可能会出现沉淀，加热到37℃溶解沉淀。

### 可能出现的问题与对策

| 问题                                      | 原因                          | 建议                                                 |
|-----------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------------------|
| 堵柱子                                     | 裂解不完全                       | 加入正确体积Buffer SL，若有需要可延长在65℃水浴放置时间                  |
|                                         | 样本太粘滞了                      | 将样本分装多管，用去离子水调整体积至500 μl                           |
| 低DNA量                                   | 洗脱不足                        | 重复洗脱或增加洗脱体积，加入Elution Buffer并将柱子置于65℃放置5min有助于提高产量 |
|                                         | 堵柱子                         | 见上面                                                |
| 低A <sub>260</sub> / A <sub>280</sub> 比率 | 由于与SL Buffer混和不完全导致细胞裂解不足   | 重复操作确保样品与Buffer SL彻底混和均匀                           |
|                                         | 柱子仍遗留有血红蛋白                  | 样本过柱后，用300μl的Buffer SL洗涤一次                         |
| 没有洗脱出DNA                                | 与Buffer SL混和不恰当导致细胞裂解不足     | 到入柱子之前用Buffer SL混和完全                               |
|                                         | 样品裂解后没加入乙醇调整结合条件            | 过柱前加入，裂解液加入适量的无水乙醇。                                |
|                                         | DNA Wash Buffer没有按说明书加入乙醇稀释 | 使用前按说明书加入适量的无水乙醇进行稀释                               |
| 洗涤时柱中有带颜色的遗留物                           | 样品与Buffer BL没完全混匀，导致裂解效果差   | Buffer BL比较粘稠，故加入Buffer BL需剧烈混匀                    |
|                                         | 样品裂解后没加入乙醇调整结合条件            | 过柱前加入，裂解液加入适量的无水乙醇。                                |



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com