



Saliva Genomic DNA Kit

唾液基因组DNA提取试剂盒

目录号：CW2655S (50 preps)

CW2655M (200 preps)

保存条件：室温（15-30°C）

产品内容

| Component | CW2655S 50 preps | CW2655M 200 preps |
|---------------------------------------|---------------------|----------------------|
| Buffer GL | 25 mL | 100 mL |
| Buffer GW1 (concentrate) | 13 mL | 52 mL |
| Buffer GW2 (concentrate) | 15 mL | 50 mL |
| Buffer GE | 15 mL | 60 mL |
| Proteinase K | 2×1.25 mL | 2×5 mL |
| Spin Columns DM With Collection Tubes | 50 | 200 |

产品简介

本试剂盒适合于从新鲜唾液或唾液/保存液混合液中提取基因组DNA。本产品纯化过程不需使用苯酚或氯仿等有毒溶剂，无需乙醇沉淀。优化的缓冲体系使DNA异地结合到硅基质离心吸附柱上，PCR和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤步骤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可得到高纯度DNA。纯化得到的可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

自备试剂：无水乙醇

实验前准备及重要注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇。
3. 使用前请检查 Buffer GL是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将 Buffer GL 于 56°C 水浴重新溶解。
4. 如果下游实验对RNA污染比较敏感，可以在第3步中加入 4 μ L DNase-Free的RNase A (100 mg/mL)，RNase A本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购，货号：CW0601。
5. 若要在室温下长时间保存唾液DNA，推荐使用本公司的唾液DNA保存管 (CW2667)。

操作步骤

1. 加入唾液样本或唾液/保存液混合液 400 μ L。
注意：1) 加入保存液的唾液混合物需在提取前50°C水浴1小时或50°C空气温箱2小时。
2) 如需要增加样本体积，则倍比增加步骤2-4中的 Proteinase K、Buffer GL 和无水乙醇的体积，步骤5中液体可分多次转入。
2. 加入 40 μ L Proteinase K。
3. 加入 400 μ L Buffer GL，涡旋震荡充分混匀，56°C水浴15-30分钟。
注意：如需去除 RNA，可在上述步骤完成后，加入 4 μ L 浓度为 100mg/mL 的 RNase A 溶液 (货号：CW0601)，涡旋15秒，室温放置2分钟。

4. 短暂离心以去除管盖内壁的水珠。加入 400 μ L 无水乙醇，涡旋震荡充分混匀。短暂离心。
注意：1) 加入 Buffer GL 和无水乙醇后要立即涡旋震荡混匀。
2) 加入 Buffer GL 和无水乙醇后可能会产生白色沉淀，不会影响后续实验。
3) GL 和无水乙醇后可能形成溶胶状产物，此时推荐进行剧烈震荡或涡旋处理。
5. 上一个步骤中所得溶液全部加入到已装入收集管 (Collection Tube) 的吸附柱 (Spin Column DM) 中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入 500 μ L Buffer GW1 (使用前检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm 离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入 500 μ L Buffer GW2 (使用前检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm 离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
注意：如需进一步提高DNA纯度，可重复步骤7。
8. 12,000 rpm离心 2 分钟，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应 (酶切、PCR等)。
9. 将吸附柱置于一个新的离心管 (自备) 中，向吸附柱的中间部位悬空加入 50-200 μ L Buffer GE 或灭菌水，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液，-20 $^{\circ}$ C 保存DNA。
注意：1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对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 (可以用NaOH将水的pH值调到此范围)，pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。
2) Buffer GE 在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴预热，离心之前室温孵育 5 分钟可以增加产量。
3) 因为保存在水中的 DNA 会受到酸性水解作用的影响，如需长期保存，推荐用 Buffer GE 洗脱并于-20 $^{\circ}$ C保存。