



# 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℃）

### 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  $\mu$ 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 $\mu$ 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，则同比增加步骤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  $\mu$ L Proteinase K。
3. 加入400  $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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。**