

## 96 唾液 DNA 提取试剂盒

### 一、产品简介

本试剂盒专门为从唾液中提取 DNA 而设计, 处理体积为 100  $\mu$ l, 预期 DNA 产量为 3-7  $\mu$ g, 最小洗脱体积为 15  $\mu$ l。

其中 Buffer SP 可作为样品保存液体, Buffer SP 与唾液按 2: 1 比例混合后可于室温稳定保存 3 个月。

如唾液中已添加其他保护液, 请联系技术支持。

本试剂盒使用 96 DNA 吸附板-C15 回收 DNA, 完全避免个别孔可能被堵塞的情况, 确保样品提取的均一性, 最小洗脱体积为 25  $\mu$ l, 最大洗脱总体积为 140  $\mu$ l。

### 二、试剂盒组成和储存

| 组成内容                    | DK802-96-2 (2×96) | 原理与用途                 |
|-------------------------|-------------------|-----------------------|
| Proteinase K*           | 2×1 ml            | 降解蛋白                  |
| Buffer SP               | 60 ml             | 裂解细胞、释放 DNA; 可作为样品保存液 |
| Buffer GBR              | 120 ml            | 调整 DNA 结合条件           |
| Buffer WAG              | 120 ml            | 洗涤去除蛋白和抑制物            |
| Buffer WB1 <sup>‡</sup> | 65 ml             | 洗涤去除盐                 |
| 96 DNA 吸附板-C15          | 2 块               | 选择性吸附 DNA             |
| 96 深孔板 (2.2 ml)         | 6 块               | 接收废液                  |
| 96 U 型板                 | 2 块               | 接收洗脱的 DNA             |
| 不干胶片                    | 8 张               | 密封 96 孔板              |
| TE <sup>‡</sup>         | 30 ml             | 洗脱 DNA                |
| 说明书                     | 1 份               |                       |

\*Proteinase K: 20 mg/ml, 室温保存。可能会析出白色粉末状、絮状或者晶体状不溶物, 不影响使用效果, 使用前混合均匀。

<sup>‡</sup>Buffer WB2: 第一次使用前按试剂瓶所示体积加入无水乙醇, 混合均匀。

<sup>‡</sup>TE: 10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, 0.025%NaN<sub>3</sub>, pH 8.0(25°C)。

所有组成成分于室温储存。

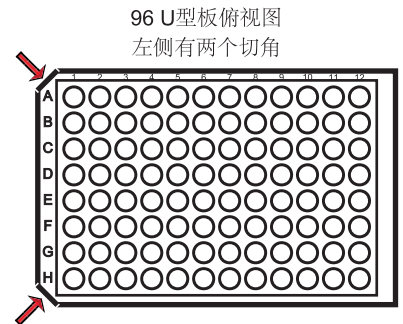
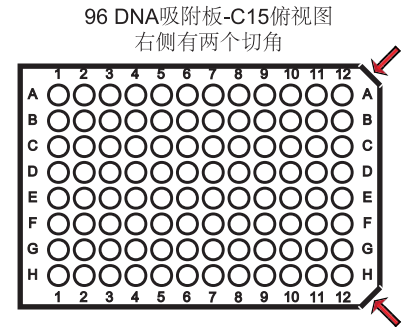
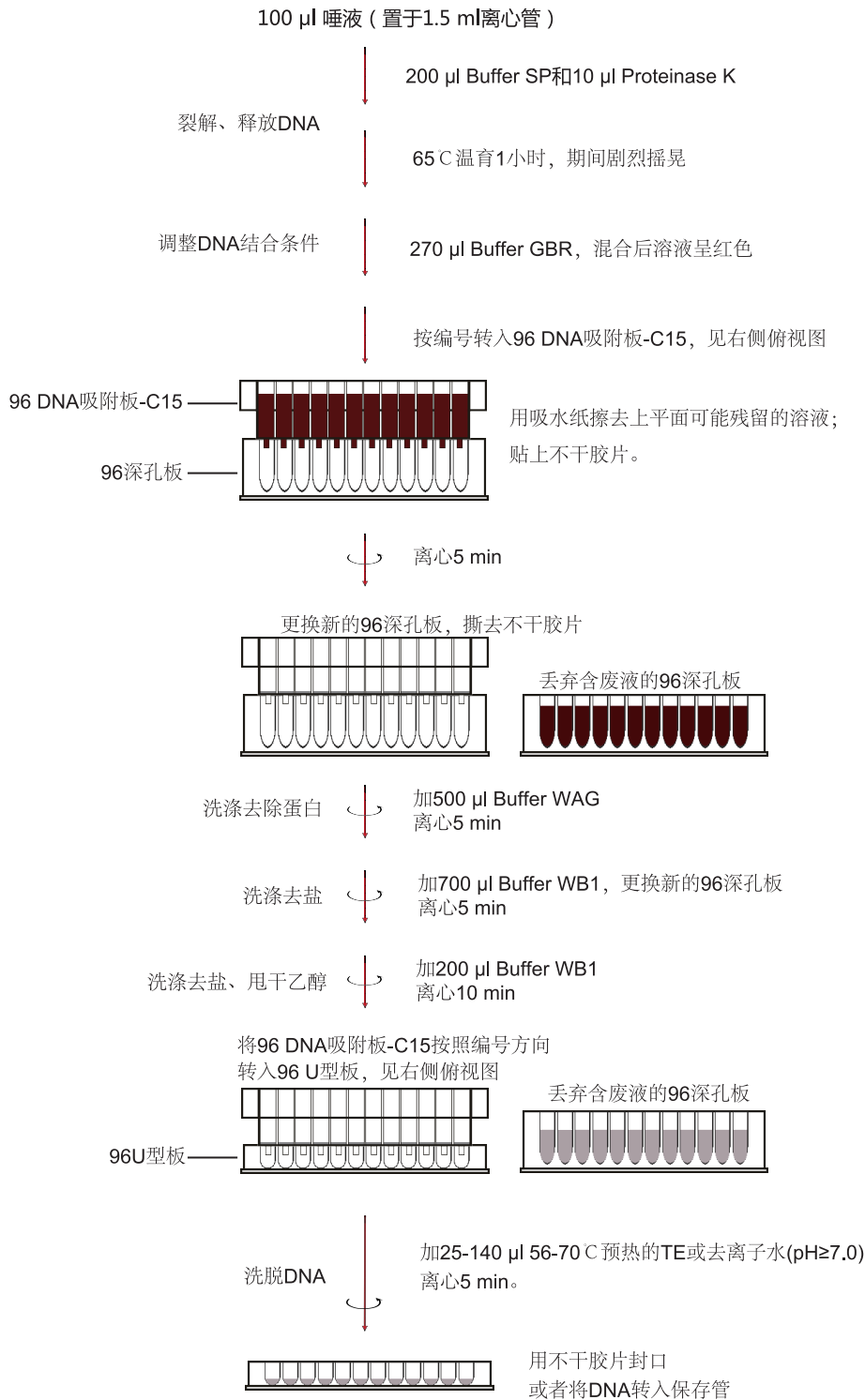
### 三、注意事项

1. Buffer SP、Buffer GBR 和 Buffer WAG 含刺激性化合物, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服、谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛, 立即使用大量水或生理盐水冲洗沾染处, 必要时寻求医疗咨询。
2. 每次使用后应及时盖紧试剂瓶盖, 以免影响下次使用效果, 尤其是 Buffer GBR、Buffer WAG 和添加了乙醇的 Buffer WB1。

### 四、实验准备

1. 65°C 水浴或温箱; 65°C 预热 TE 或去离子水 (pH $\geq$ 7)。
3. 第一次使用前, 按试剂瓶所示体积在 Buffer WB1 中加入无水乙醇, 混合均匀。

## 五、操作流程示意图



## 六、操作步骤

为了避免样品间交叉污染，步骤 1-2 使用单个离心管操作；

为了方便操作，建议步骤 1-3 使用 96 离心管盒操作，步骤 2 使用温箱加热；

所有离心条件为：吊篮式水平转子，室温 2,500×g；如果离心力偏低，不利于溶液滤过，最终获得的 DNA 有明显的蛋白、盐和乙醇残留；如果

离心力偏高，塑料耗材可能会变形甚至破裂。计速为 rpm 的离心机，按公式计算所需转速：

$$\text{转速(rpm)} = \frac{15007}{\sqrt{R}} \quad R \text{ 为转子半径, 单位 cm.}$$

如果吊篮式水平转子底部不平整，应在底部垫上合适尺寸、平整的铁板或者塑料板。

1. 在干净的离心管中加入 **100 μl 唾液**、**200 μl Buffer SP** 和 **10 μl Proteinase K**，用力摇晃 20 次混合均匀，置于 65℃ 水浴或温箱 60 min，温育期间至少用力摇晃混合 1 次，延长温育时间不影响使用效果，可温育过夜。

2. 加入 **270 μl Buffer GBR**，用力摇晃 10 次混合均匀（！请勿离心）。

Buffer GBR 含指示剂，方便观察加样和步骤 4 溶液转移。后续步骤能彻底去除指示剂。

3. 将 **96 DNA 吸附板-C15** 置于 **96 深孔板** 上，将步骤 2 中的溶液按编号转入 **96 DNA 吸附板-C15** 对应的孔中；

如果 **96 DNA 吸附板-C15** 上平面沾染溶液，用干净的吸水纸擦干，贴上**不干胶片**。

！转移溶液时避免交叉污染。

4. 将 **96 DNA 吸附板-C15** 连同 **96 深孔板** 放入吊篮式水平转子，离心 5 min；将 **96 DNA 吸附板-C15** 转入另外一块干净的 **96 深孔板**，撕去**不干胶片**。

5. 每孔加入 **500 μl Buffer WAG**，离心 5 min。

6. 每孔加入 **700 μl Buffer WB1**，离心 5 min；将 **96 DNA 吸附板-C15** 转入另外一块干净的 **96 深孔板**。

7. 每孔加入 **200 μl Buffer WB1**，离心 10 min。

8. 将 **96 DNA 吸附板-C15** 按照编号方向转入 **96 U 型板**，每孔加入 25-140 μl 56-70℃ 预热的 TE 或去离子水(pH≥7.0)，离心 5 min。

加入洗脱液体积为 25-100 μl，需将洗脱液准确加在硅胶膜中央；加入洗脱液体积为 100-140 μl，无需注意加样的位置。

56-70℃ 预热 TE 或者去离子水(pH≥7.0)，可以提高洗脱效率。

如果使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至≥7.0。

再次加入≥25 μl TE 或去离子水洗脱，可以提高洗脱效率。但洗脱总体积不可超过 140 μl，不然 96 DNA 吸附板-C15 底部会接触液面。