

YALEPIC[®] 唾液 DNA 提取试剂盒 (不含 RNase A)

YALEPIC[®] Saliva Genomic DNA Isolation Kit (No RNase A)

产品货号: YC22010

产品保存及运输条件:

常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] Saliva Genomic DNA Isolation Kit (No RNase A) 适用于从新鲜唾液或唾液/保存液混合液中提取基因组 DNA, 无需使用苯酚或氯仿等有毒溶剂。本试剂盒采用优化的缓冲体系使 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上, 纯化可得到质量稳定、高纯度的基因组 DNA, 可最大程度地去除 RNA、杂蛋白、脂类及其他抑制性杂质。提取的 DNA 可用于酶切、PCR、Real-Time PCR、印迹杂交、文库构建等多种下游实验。

产品组分

序号	产品组分	YC22010 (50 T)
①	YG Buffer	26 ml
②	Wash Buffer GA	13 ml
③	Wash Buffer GB	16 ml
④	YGE Buffer	15 ml
⑤	Proteinase K	2 x 1.2 ml
⑥	Pure Columns YM with Collection Tubes	50 T

适用范围

新鲜唾液; 唾液/保存液混合液。

自备试剂及仪器

无水乙醇；Nuclease-free 移液器吸头；1.5 ml Nuclease-free 离心管；高速离心机；恒温水浴锅；涡旋振荡仪等。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等。
2. 首次使用 **Wash Buffer GA**、**Wash Buffer GB** 前，应按试剂瓶标签加入无水乙醇。
3. 使用前请检查 **YG Buffer** 中是否有晶体析出，如有晶体析出，可放置 56°C 水浴锅使晶体溶解，混匀后方可使用。
4. 如需单独除去 RNA，可在加入 **YG Buffer** 之后加入 4 μ l 浓度为 100 mg/ml 的 DNase-Free 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001)，振荡混匀。
5. 如需室温下长期保存唾液样本，可使用唾液 DNA 保存管 (YALI#YS21010)。

实验流程

1. 加入唾液样本或唾液/保存液混合液 400 μ l。
注：
 - 1) 若为保存液的唾液混合物需提前在 50°C 水浴 1 h 或 50°C 空气温箱 2 h。
 - 2) 如需要增加样本体积，则步骤 2 ~ 4 中的 Proteinase K、YG Buffer 和无水乙醇的体积需按比例增加。
2. 向上述溶液中依次加入 40 μ l **Proteinase K**，400 μ l **YG Buffer** 后立即涡旋振荡 15 s 使样品彻底混匀。56°C 放置 30 min。 (注：不可将 Proteinase K 直接加入 YG Buffer 中使用)
3. **可选**：如需无 RNA 污染的基因组 DNA，可加入 4 μ l 浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液，室温放置 3 min。
4. 瞬时离心，使管壁上的溶液收集到管底。加入 400 μ l 无水乙醇 (自备)，立即涡旋振荡充分混匀，瞬时离心，使管壁上的溶液收集到管底。 (注：白色沉淀不影响后续实验)
5. 将全部溶液加入已装入收集管的吸附柱 (**Pure Columns YM with Collection Tubes**) 中，每次不超过 750 μ l 可分多次转入。12,000 rpm 离心 1 min，弃废液，将吸附柱放回管中。
6. 向吸附柱中加入 500 μ l **Wash Buffer GA**，12,000 rpm 离心 1 min，弃去收集管中废液，将吸附柱放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入 500 μ l **Wash Buffer GB** (使用前检查是否加入无水乙醇)，12,000 rpm 离心 3 min，弃去收集管中废液，将吸附柱放回收集管中。重复该步骤一次。
8. 空管 12,000 rpm 离心 1 min，弃去收集管中的废液。将吸附柱置于室温 3 ~ 5 min，以彻底晾干。 (注：乙醇残留会影响后续的酶促反应，应将吸附柱中残余的乙醇彻底去除)

9. 将吸附柱置于一个新的 Nuclease-free 离心管 (自备) 中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 50 μ l **YGE Buffer**, 室温放置 3 ~ 5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集溶液, - 20 $^{\circ}$ C 长期保存。

注:

- 1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感, 可以用 ddH₂O 洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响, 若用 ddH₂O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0 ~ 8.5, pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。
- 2) 如果要提高 DNA 浓度, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 重复步骤 9。
- 3) 如要增加产量, 可用新的 50 μ l YGE Buffer/ddH₂O 进行洗脱。
- 4) YGE Buffer/ddH₂O 可在 56 $^{\circ}$ C 提前预热, 滴加至膜中后, 室温静置 2 ~ 5 min。

DNA 浓度及纯度检测

基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰, OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50 μ g/ml 双链 DNA、40 μ g/ml 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7 ~ 1.9, 如果洗脱时不使用洗脱缓冲液, 而使用 ddH₂O, 比值会偏低, 因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值, 但并不表示纯度低。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断