

Version: AA 3.2 (2021.04.01修订)

SPARKclassic Saliva DNA Kit

唾液DNA收集保存运输提取试剂盒

(溶液型)

目录号: AA1501

01/产品组分

序号	组分	10 次 AA1501-A	50 次 AA1501-B
1	保存液	2 mL×10	2 mL×50
2	细胞裂解液	10 mL	50 mL
3	杂质沉淀液	17 mL	85 mL
4	DNA 溶解液	10 mL	20 mL
5	5 mL 采集管	10 个	50 个

02/保存条件

所有组分均室温（15-25℃）保存。

03/产品概述

本试剂盒可提供无疼痛、非侵入性的方法，患者不用忍受抽血的疼痛和感染的风险就能获得高质量、高数量的样品，受测者排斥性低，婴儿和老人都能方便取得 DNA 样本。收集过程十分简单，受测者将唾液吐至保存液内混匀就完成收集过程。混匀后常温下可运输保存长达一年不会变质。能够节省运送、保存冷藏设备和电力费用。收集的唾液通过几个简单步骤便可提取 DNA，整个提取过程可在 2 h 内完成。抽取的 DNA 产量平均达 110 µg/2 mL 唾液。

04/自备材料

异丙醇、70%乙醇、RNase A、Glycogen（可选，用于唾液含量低时）

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 细胞裂解液低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化等影响，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。

06/使用方案

唾液样品收集步骤：

1. 用清水漱口1-2次，然后吐掉。
2. 漱口后等候至少5 min方可采集唾液，期间不要进食、饮用饮料。
3. 将唾液（不是喉咙中痰液）吐到5 mL采集管中，直至2 mL刻度位置（不可将痰液吐到收集管中，若唾液不足，可做口舌运动，促进分泌。浮在唾液上层的少量泡沫不包括计算在2 mL唾液采集量内，采集过程必须在30 min内完成）。
4. 将等体积2 mL保存液全部倒在5 mL唾液采集管中，充分颠倒混匀后旋紧管盖。

唾液DNA提取步骤（2 mL唾液量举例，可按比例放大缩小每次提取的唾液量）：

1. 将保存液/唾液混合物放置于50℃水浴中至少1 h或50℃空气孵箱至少2 h。
2. 转移4 mL混合物（2 mL唾液加2 mL保存液）到一个15 mL或者50 mL的离心管。加入1 mL细胞裂解液和10 μL RNase A溶液（10 mg/mL）。高速涡旋振荡10 s后室温放置10 min。
3. 加入1.7 mL杂质沉淀液到上述裂解混合物中。高速涡旋振荡25 s，充分混匀杂质沉淀液和裂解混合物。
4. 8,000×g离心5 min。沉淀的杂质和蛋白会在管底形成一个致密的沉淀团。如果蛋白沉淀不太致密，可以冰上放置5 min，然后重复步骤4。
5. 转移上清（含有DNA）到一个新的15 mL或者50 mL的离心管。注意不要触动管底沉淀。加入5 mL异丙醇，（唾液DNA含量较低时，加入40 μL Glycogen 20 mg/mL可能提高一些产量），轻柔颠倒混匀50次（有时可以看见沉淀）。
6. 2,500×g离心3 min，此时一般可在管底看到白色的DNA沉淀。
7. 弃上清，倒置后在吸水纸上轻敲几下以尽可能吸干。加入5 mL 70%乙醇，颠倒几次漂洗DNA沉淀。
8. 2,500×g离心1 min，弃上清（注意不要把DNA沉淀倒掉）。
9. 倒置在吸水纸上控干或用枪头吸掉管底残留乙醇（不要过度干燥，也不要残留乙醇）。
10. 加入250-400 μL DNA溶解液重新水化溶解DNA沉淀，轻弹管壁混匀。
11. 可以放置在65℃温育30-60 min（不要超过1 h），然后在室温或者4℃放置过夜来重新水化DNA，中间不时的轻弹管壁帮助重新水化DNA。

12. DNA可以存放在2-8℃，如果要长时间存放，可以放置在-20℃或者-80℃。

07/流程简图



裂解：血液、干血点、组织、口香糖、法医材料（烟头或过滤嘴外层纸、信封邮票、毛发毛囊、指甲、沾染血液、精液、唾液的材料等、包括福尔马林固定的微切割样品）适量**裂解液ML**



去蛋白：适量**蛋白酶K**，适量**结合液CB**，适量**Poly Carrier**



结合：适量无水乙醇，将混合物加入预处理的**吸附柱AC**
14,500×g离心30-60 s



去抑制物：500 μL**抑制物去除液IR**，13,400×g离心30 s
去盐离子：600 μL**漂洗液WB**(检查是否已加入无水乙醇!)
13,400×g离心30 s，两次
去残留乙醇：14,500×g空甩2 min



洗脱：20-50 μL**洗脱液EB**（65-70℃预热）
室温静置2-5 min，13,400×g离心1 min
可重复洗脱一次，长期储存-20℃

08/相关产品

AA1904-A RNase A（10 mg/mL）

AA1904-B RNase A（100 mg/mL）

AA1901 SPARK 唾液DNA收集保存管

AC1706 Poly Carrier 核酸助沉剂

AC1707 Glycogen 核酸助沉剂

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

