

版本号: DP180622

TIANamp Stool DNA Kit

粪便基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP328

产品内容

产品组成	DP328 (50 preps)
缓冲液 SA (Buffer SA)	30 ml
缓冲液 SC (Buffer SC)	5 ml
缓冲液 SH (Buffer SH)	10 ml
缓冲液 GFA (Buffer GFA)	10 ml
缓冲液 GD (Buffer GD)	13 ml
漂洗液 PW (Buffer PW)	15 ml
洗脱缓冲液 TB (Buffer TB)	15 ml
Proteinase K	1 ml
RNase A (10 mg/ml)	600 μ l
1 mm 研磨珠 (1 mm Grinding Beads)	15 g
RNase-Free 吸附柱 CR2 (RNase-Free Spin Columns CR2)	50 个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes(2 ml))	50 个

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25 $^{\circ}$ C) 干燥条件下可保存 12 个月; 更长时间的保存可置于 2-8 $^{\circ}$ C。

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的离心吸附柱和独特沉淀系统提取粪便样本的基因组 DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，能够高效、专一吸附 DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。独特沉淀剂可以有效去除样品中的杂质。提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可直接用于 PCR 等其它分子生物学下游实验。

产品特点

适用范围广：适用于不同来源的固态或液态粪便样本。

简单快速：1 h 内即可获得超纯的基因组 DNA。

高纯度：高效的沉淀剂去除腐殖酸等杂质，提取的 DNA 纯度很高，可直接用于下游实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
 2. 若缓冲液 SA 或 SC 中有沉淀，可在 37°C 水浴中重新溶解，并摇匀后使用。
 3. 建议充分混匀样品，如果样品混匀不充分可能影响裂解效率，最终影响得率和比值。
 4. 如果样品吸水较多，可以等比例增加缓冲液 SA 和 SC 的量，如果缓冲液 SA 和 SC 不足，可单独购买。
-

操作步骤

使用前请先在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇，缓冲液 GFA 中加入异丙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 称取粪便样本 180-220 mg 至 2 ml 离心管中，并将管子置于冰上。

注意：如果是液态样本则转移 200 μ l 至离心管中。

2. 向样本中加入 500 μ l 缓冲液 SA，100 μ l 缓冲液 SC，15 μ l Proteinase K，0.25g 的研磨珠间歇振荡 1 min 至样本充分混匀或使用 TGrinder H24 组织研磨均质仪（OSE-TH-01）混匀（6M/S 的速度振荡 30s，间隔 30s，共 2 个循环）。

3. 70 $^{\circ}$ C 孵育 15 min，孵育期间震荡 2-3 次。

注意：对于较难破壁的革兰氏阳性菌，可将温度提高至 95 $^{\circ}$ C 以促进裂解。

4. 涡旋 15 sec，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 3 min，转移上清液至新的离心管中，加入 10 μ l 的 RNase A，震荡混匀后室温放置 5min。

5. 加入 200 μ l 缓冲液 SH，震荡混匀，置冰上 5min。

6. 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 3 min。

7. 将上一步所得上清液转移至新的 1.5 ml 离心管，加入等体积缓冲液 GFA (**使用前请先检查是否已加入异丙醇**)。

8. 将上一步所得溶液加入到一个吸附柱 CR2 中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 sec，倒掉废液，将吸附柱 CR2 放入收集管中。

9. 向吸附柱 CR2 中加入 500 μ l 缓冲液 GD (**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**)，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 sec，倒掉废液，将吸附柱 CR2 放入收集管中。

10. 向吸附柱 CR2 中加入 700 μ l 漂洗液 PW (**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**)，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 sec，倒掉废液，吸附柱 CR2 放入收集管中。

11. 重复操作步骤 10。

12. 将吸附柱 CR2 放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 min，倒掉废液。将吸附柱 CR2 置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

13. 将吸附柱 CR2 转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 50 μl 洗脱缓冲液 TB，室温放置 2-5 min，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心 2 min，将溶液收集到离心管中。
注意：为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱 CR2 中，室温放置 2 min，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心 2 min。洗脱液的 pH 值对于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 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20°C ，以防 DNA 降解。

DNA 浓度及纯度检测

得到的基因组 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 $\mu\text{g/ml}$ 双链 DNA、40 $\mu\text{g/ml}$ 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。