

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°C) 干燥条件下可保存12个月; 更长时间的保存可置于2-8°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°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°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。



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
 - 技术公开课合辑
 - 全线产品查询
 - 在线专家客服
 - 微信直播课堂
 - 最新优惠活动
-

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 μ l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 $^{\circ}$ 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 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。
