

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的抑制剂吸附片InhibitEX配合专项开发的缓冲液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。独特的吸附片可以简单快速的吸附样品中的杂质。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：高效的吸附片与离心柱法纯化相结合，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GSL或GB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，并摇匀后使用。
 3. 所有的离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
-

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，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1.4 ml缓冲液GSL，间歇振荡1 min至样本混匀。

3. 70°C 孵育5 min。

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(\sim 13,400 \times g) 离心1 min。转移上清液1.2 ml至新的2 ml离心管。

5. 加入一个抑制剂吸附片InhibitEX，振荡至吸附片彻底打开重悬。室温孵育1 min，使吸附片能充分作用。

6. 12,000 rpm(\sim 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，重复步骤6。

8. 转移所得上清液200 μ l至新的1.5 ml离心管，加入15 μ l Proteinase K。

9. 加入200 μ l缓冲液GB，涡旋15 sec。

10. 70°C 孵育10 min。

注意：简短离心以收集管壁及管盖上的液滴。

11. 加入200 μ l无水乙醇，涡旋混匀。

注意：简短离心以收集管壁及管盖上的液滴。

12. 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 (\sim 13,400 \times g) 离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CR2放入收集管中。

13. 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 (\sim 13,400 \times g) 离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CR2放入收集管中。

14. 向吸附柱CR2中加入600 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 (\sim 13,400 \times g) 离心30 sec，倒掉废液，吸附柱CR2放入收集管中。

15. 重复操作步骤14。

16. 将吸附柱CR2放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 × 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。

17. 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 (~13,400 × 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 (~13,400 × 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℃，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 μg/ml双链DNA、40 μg/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。