

版本号: DP121221

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	DP328-02 (50 preps)
缓冲液GSL (Buffer GSL)	80 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	15 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
InhibitEX吸附片 (InhibitEX Tablets)	50个
吸附柱CR2 (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℃) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8℃。2-8℃保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37℃水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

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。
