

核酸提取或纯化试剂

粪便基因组 DNA 提取试剂盒说明书 (离心柱型)

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

【包装规格】

50 人份/盒。

【预期用途】

用于核酸的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

【实验原理】

含有靶核酸的待分离样品经裂解液裂解细胞后，利用硅胶膜与核酸特异性识别和高效结合的原理，通过洗涤、洗脱、纯化过程得到高纯度的核酸。

【主要组成成份】

本试剂盒由以下组分组成：

组分名称	规格	装量
缓冲液 SA (Buffer SA)	50 人份/瓶	30 ml
缓冲液 SC (Buffer SC)	50 人份/瓶	5 ml
缓冲液 SH (Buffer SH)	50 人份/瓶	10 ml
缓冲液 GFA (Buffer GFA)	50 人份/瓶	10 ml
缓冲液 GD (Buffer GD)	50 人份/瓶	13 ml
漂洗液 PW (Buffer PW)	50 人份/瓶	15 ml
洗脱缓冲液 TB (Buffer TB)	50 人份/瓶	15 ml
蛋白酶 K (Proteinase K)	50 人份/管	1 ml
RNA 酶 A (10mg/ml) (RNase A 10mg/ml)	50 人份/包	600 µl
1mm 研磨珠 (1mm Grinding Beads)	50 人份/包	15 g
RNase-Free 吸附柱 CR2 (RNase-Free Spin Columns CR2)	50 人份/包	50 个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50 人份/包	50 个

【储运条件及有效期】

试剂置于室温 (15~30℃) 干燥下保存，有效期为 12 个月。

常温运输。

【生产日期】

见外包装标签。

【适用仪器】

需要移液器、离心机等仪器设备配合使用。

【样本要求】

1. 适用样本类型：人类新鲜粪便、冻存粪便样品等。
2. 样本采集：按照常规样品采集方法进行采集。
3. 样本保存和运送：经上述采集的待测样本可立即用于处理，或在-80℃条件下长期保存，应避免反复冻融。样本运送应采用冰壶加冰或泡沫箱加冰密封运输。

北京

电 话：010-59822688
技术支持：010-59822661/2665
邮 箱：people@tiangen.com

传 真：010-59822788
免费咨询：800-990-6057

上海

电 话：021-38653846
传 真：021-64074836
邮 箱：sh@tiangen.com

【操作方法】

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 μ l 洗脱缓冲液 TB，室温放置 2-5 min，12,000 rpm (~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 (~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。

【实验方法的局限性】

本试剂盒不能独立使用，需要与移液器以及离心机共同使用。

【产品性能指标】

使用土壤样本 0.5g，按照说明书提取 DNA，重复 3 个，使用分光光度计检测，所提得 DNA OD_{260/280}=1.7-1.9，提取得率不低于 1.8 μ g；经琼脂糖凝胶电泳检测，眼观可见 DNA 条带清晰。

【注意事项】

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 拿到样品后要尽快保存在 -80 $^{\circ}$ C 条件下，并避免反复冻融，否则会导致基因组降解，影响下游实验。

2. 本产品所提 DNA 的完整性依赖于样本类型、储存时间以及固定条件。
3. 若缓冲液 SA 或 SC 中有沉淀, 可在 37℃ 水浴中重新溶解, 摇匀后使用。
4. 所有离心步骤均在室温下离心。
5. 若溶液与皮肤、粘膜接触, 请立即用自来水冲洗, 对操作者不会造成伤害风险。
6. 溶液使用后应将瓶盖拧紧, 避免蒸发。

【生产及售后服务企业】

企业名称: 天根生化科技(北京)有限公司

注册及生产地址: 北京市海淀区西小口路 66 号 C-7 三层 邮编: 100192

电话: 010-59822688

E-mail: people@tiangen.com

【体外诊断试剂生产备案号】京海食药监械生产备 20140007 号

【体外诊断试剂产品备案号】京海械备 20170023 号

【说明书批准及修改日期】2018 年 11 月 7 日