

粪便 DNA 纯化试剂盒（配套粪便保存液）说明书

产品组成

粪便 DNA 纯化试剂盒（配套粪便保存液）	50 次制备
Cat. No.	4111050
核酸纯化柱	50 个
2 ml 离心管	50 个
蛋白酶 K 贮存液	1.2 ml
Buffer HST	30 ml
Buffer SL	12 ml
Buffer WA（浓缩液）	12 ml
Buffer WB（浓缩液）	9.5 ml
Buffer TE	12 ml
说明书	1 份

产品储存

1. 蛋白酶 K 贮存液请置于 - 20℃ 储存。
2. 其他试剂与物品如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上（2~8℃ 储存的产品使用前应先恢复到室温后再使用）。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 100 μl 粪便溶解物（使用 Simgen 粪便保存液或同类产品获得的粪便溶解物）中分离总 DNA。被溶解的粪便中的人或动物的基因组 DNA、病毒 DNA、细菌及寄生虫 DNA 均可结合到核酸纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，基因组 DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管
3. 移液器及吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 水浴锅和旋涡震荡器

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
- 2) 将水浴锅温度设置到 70℃，并将 Buffer HST 和 Buffer TE 在 70℃ 温育。
- 3) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

一、 粪便保存液的使用方法：

按每1 mg粪便样本加入2 μ l粪便保存液的比例加入粪便保存液，立即旋涡振荡直至粪便颗粒全部分散溶解。

* 比如收集了500 mg粪便，则加入1 ml粪便保存液悬浮粪便颗粒。

* 如果粪便颗粒较难以分散，请以吸头或研磨棒捣碎粪便颗粒，否则粪便颗粒中的菌体未被粪便保存液渗透进入，会导致细菌DNA的降解。

* 新鲜收集的粪便样本应立即加入粪便保存液。即使室温放置2-3小时的粪便，如果不加入粪便保存液，提取的DNA也会观察到有严重的降解现象。

* 粪便样本中的DNA经粪便保存液稳定后可在室温（15-25 $^{\circ}$ C）保存6个月以上而免于降解，2-8 $^{\circ}$ C或更低温度下可存放2年以上保持DNA不被降解。

二、 粪便DNA的提取：

1. 将装有粪便及粪便保存液的离心管1500 rcf离心5分钟以沉降大颗粒不溶物。
2. 吸取100 μ l步骤1中离心管中的上层悬浮物，转移到自备的1.5 ml离心管中。
3. 加入350 μ l Buffer HST，盖上管盖，混合均匀，70 $^{\circ}$ C水浴5分钟。
4. 12000 rpm离心1分钟。
5. 吸取20 μ l蛋白酶K贮存液，加入到一个1.5 ml离心管管底。
6. 吸取200 μ l步骤4中的离心上清加入到该1.5 ml离心管中。
7. 加入200 μ l Buffer SL，旋涡振荡约15秒混匀。将离心管置于70 $^{\circ}$ C水浴10分钟。
8. 加入200 μ l无水乙醇，温和地翻转4~6次混和均匀。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。
9. 吸取步骤8中的混合液加入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于2 ml离心管中），盖上管盖，12000 rpm离心30秒。

* 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。

10. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入500 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2 ml离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

11. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，在核酸纯化柱中加入600 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm离心30秒。

* 确认在Buffer WB中已经加入无水乙醇。

12. 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，14000 rpm离心1分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到14000 rpm，则用最高速离心2分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的PCR效果。

13. 弃2 ml离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的1.5 ml离心管中，在纯化柱的膜中央加入100~150 μ l 70 $^{\circ}$ C温育的Buffer TE，盖上管盖，室温静置1分钟，12000 rpm离心30秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为8000 rpm离心1分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

14. 弃纯化柱，洗脱的DNA可立即用于各种分子生物学实验；或者将DNA储存于-20 $^{\circ}$ C备用。

* DNA用作PCR扩增的模板时，加入DNA的体积量勿超过PCR扩增体系体积的1/10。