

粪便 DNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

粪便 DNA 纯化试剂盒 Cat. No.	5 次样品 4101005	50 次制备 4101050	250 次制备 4101250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 离心管	5 个	50 个	250 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml	1.2 ml $\times$ 5
Buffer S	4 ml	35 ml	165 ml
Buffer ST	4 ml	35 ml	165 ml
Buffer SL	1.2 ml	12 ml	60 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml	60 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	10 ml	50 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml	60 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存

1. 蛋白酶 K 贮存液请置于 - 20℃ 贮存。
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产品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 150~200 mg 新鲜的或者是冷冻贮藏的人或动物粪便中分离总 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 离心管和 2 ml 离心管（某些国产 2 ml 离心管 95℃ 水浴时管盖会爆开，请选择合适的 2 ml 离心管。）
3. 移液器吸头（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. 水浴锅和旋涡振荡器



扫二维码观看操作视频

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℃ 和 95℃，并将 Buffer ST 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：

* 新鲜收集的粪便样本应及时放到 -20°C 或更低的温度贮存。即使室温放置2-3小时的粪便（人粪便），提取的DNA后也会观察到有降解现象；如果放置的时间更长，提取的DNA可能降解非常严重，甚至观察不到电泳可见的DNA条带。

1. 用自备的2 ml离心管称取150~200 mg固体粪便；如果粪便呈液态，则直接吸取200 μl 粪便。

* 如果是非常干燥的粪便样本（比如便秘的粪便样本），取样量不要超过120 mg，否则可能导致后续步骤堵塞纯化柱，或提取的DNA中PCR抑制物含量过高。

2. 加入600 μl Buffer S，盖上管盖，旋涡震荡直至粪便充分散开、无大块颗粒存在。

3. 加入600 μl Buffer ST，盖上管盖，混合均匀， 95°C 水浴5分钟。

* 如果仅需要检测肠道细胞DNA或者粪便中的革兰氏阴性细菌的DNA，则仅需 70°C 水浴5分钟。

4. 旋涡震荡15秒，最高速（ ≥ 12000 rpm）离心1分钟。

5. 吸取20 μl 蛋白酶K贮存液，加入到一个1.5 ml离心管管底。

6. 吸取200 μl 步骤4中的离心上清加入到该1.5 ml离心管中。

* 如果步骤4中的离心上清顶部有漂浮的油脂状物，请将吸头穿过漂浮物吸取上清，不要带入漂浮物。

7. 加入200 μl Buffer SL，旋涡震荡约15秒混匀。将离心管置于 70°C 水浴10分钟。

8. 加入200 μl 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 μl 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 μl 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150~200 μl 70°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°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。