

## 粪便 DNA 试剂盒说明书

### 产品组成

粪便 DNA 试剂盒	5 次样品	50 次制备	250 次制备
Cat. No.	4101005	4101050	4101250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 收集管	5 个	50 个	250 个
蛋白酶 K 贮存液	120 $\mu$ 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

### 产品储存与有效期

蛋白酶 K 贮存液可室温运输，收到后请置于 -20°C 贮存，其他试剂与物品储存于常温（0~30°C），可在两年内保持使用性能无明显变化。

### 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°C 水浴时管盖会爆开，请选择合适的 2 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°C。
2. 将水浴锅温度设置到 70°C 和 95°C，并将 Buffer ST 和 Buffer TE 在 70°C 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做好“乙醇已加”的标记。

## 操作步骤

**注意：新鲜收集的粪便样本应及时放到 -20°C 或更低温度贮存。即使室温放置 2-3 小时的粪便（人粪便），提取的 DNA 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l Buffer S，盖上管盖，旋涡振荡直至粪便充分散开、无大块颗粒存在。
  - \* 如果粪便颗粒较硬难以分散，可用吸头或研磨棒捣碎粪便颗粒。
3. 加入 600  $\mu$ l 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. 旋涡振荡 15 秒，最高速 ( $\geq 12000$  rpm) 离心 1 分钟。
5. 吸取 20  $\mu$ l 蛋白酶 K 贮存液，加入到一个 1.5 ml 离心管管底。吸取 200  $\mu$ l 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。
6. 加入 200  $\mu$ l Buffer SL，盖上管盖，旋涡振荡约 15 秒混匀，将离心管置于 70°C 水浴 10 分钟。
7. 加入 200  $\mu$ l 无水乙醇，盖上管盖，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。
8. 吸取步骤 7 中的混合液加入到核酸纯化柱（核酸纯化柱置于 2 ml 收集管中）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。
9. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 500  $\mu$ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
  - \* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在收集管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 收集管在纸巾上倒扣拍击一次。
  - \* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。
10. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 600  $\mu$ 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。
11. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，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。
12. 弃 2 ml 收集管，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  $\mu$ l 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。
13. 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 扩增时，加入的体积勿超过 PCR 扩增体系体积的 1/10（比如扩增体系体积为 50  $\mu$ l，则 DNA 加入量不应超过 5  $\mu$ l）。