

粪便基因组DNA快速提取试剂盒

KD302 50次

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次
蛋白酶溶液	-20°C	1.2 ml
裂解液 SQ	室温	35 ml
裂解液 ST	室温	35 ml
结合液 SB	室温	12 ml
漂洗液 WA (浓缩液)	室温	12 ml
漂洗液 WB (浓缩液)	室温	10 ml
洗脱液 TE	室温	12 ml
吸附柱 AC 和收集管 (2ml)	室温	50 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 结合液 SB 和漂洗液 WA, WB 低温时可能出现沉淀, 可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解, 恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品介绍:

本产品适合 150~200mg 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 抑制剂则被过滤除去, 基因组 DNA 经漂洗液 WA 和 Buffer WB 洗涤后, 用洗脱液 TE 洗脱, 即可用于各种分

子生物学实验。

产品特点：

1. 试剂盒采用国际新型的粪便 DNA 提取技术，操作方便，步骤简单。
2. 多次柱漂洗确保高纯度， OD_{260}/OD_{280} 典型的比值达 1.7~1.9，可直接用于 PCR，Southern-blot 和各种酶切反应。

注意事项

- ⇒ 第一次使用前请在漂洗液 WA，WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀。
- ⇒ 将水浴锅温度设置到 70°C 和 95°C，并将裂解液 ST 和 Buffer TE 在 70°C 温育。
- ⇒ 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。

操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

1. 取一个 2 毫升的样品管，加入 150-200mg 土壤样本。如果粪便呈液态，则直接吸取 200 μ 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 120mg。
2. 离心管中加入 600 μ l 裂解液 SQ，盖上管盖，旋涡振荡直至粪便充分散开、无大块颗粒存在。
3. 加入 600 μ l 裂解液 ST，盖上管盖，混合均匀，95°C 水浴 5 分钟。
4. 旋涡振荡 15 秒，13,000 rpm 离心 1 分钟。
5. 取一个新的 1.5 毫升离心管，加入 20 微升蛋白酶 K 溶液在离心管管底备用。
6. 将步骤 4 中的离心上清小心吸取 200 微升，加入步骤 5 备用 1.5 毫升离心管（已加蛋白酶 K 溶液）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 μ l 结合液 SB，旋涡震荡约 15 秒混匀。然后将离心管置于 70°C 水浴 10 分钟。

8. 加入200 μ l无水乙醇，温和地翻转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. 吸取混合液（约600 μ l）加入到吸附柱AC中，盖上管盖，13000 rpm离心30秒，弃掉废液。
10. 加入500 μ l 漂洗液WA，盖上管盖，13000 rpm离心30秒，弃掉废液。
11. 加入600 μ l 漂洗液WB，盖上管盖，13000 rpm离心30秒，弃掉废液。
12. 将吸附柱AC放回空收集管中，13,000 rpm离心2 min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
13. 取出吸附柱AC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加入100 μ l70 $^{\circ}$ C温育的洗脱液TE，室温放置3 - 5 min，13,000 rpm 离心1 min。将得到的溶液重新加入吸附柱中，室温放置2 min，13,000 rpm 离心1 min。洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果预计和需要产量高，可增大洗脱体积，如果需要DNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于30 μ l，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。
14. DNA可以短时存放在2-8 $^{\circ}$ C，如果要长时间存放，可以放置在-20 $^{\circ}$ C。