

# 操作手册

## 粪便 DNA 提取试剂盒（5 克样品）

Catalog No. TB611- 2

### Highlights

- 可最多 3-5 克土壤，粪便等样品中提取到微生物的基因组 DNA。
- 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、测序等分子生物学实验。
- 无需使用蛋白酶 K 和其它有机变性剂。
- 此产品仅供科研使用。

Ver.1.1.2

## 产品组成:

试剂盒组成	保存	2 次	10 次
DNA/RNA 保护剂	室温	50 ml	250 ml
微生物 DNA 结合液	室温	40 ml	200 ml
微生物 DNA 洗涤液 1	室温	20 ml	100 ml
微生物 DNA 洗涤液 2	室温	40 ml	200 ml
基因组 DNA 洗涤液 1	室温	10 ml	10 ml
基因组 DNA 洗涤液 2	室温	25 ml	25 ml
基因组 DNA 洗脱液	室温	10 ml	10 ml
6 号柱+过滤柱	室温	2 套	10 套
裂解管	室温	2 个	10 个
磁珠	室温	200 $\mu$ l	1 ml

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

## 注意事项:

1. 环境温度低时基因组结合液或者基因组 DNA 洗涤液 1 可能出现析出和沉淀，可以在 37 $^{\circ}$ 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。

## 特性:

- **样品:** 可有效的从 5g 以内的哺乳动物粪便提取到细菌，真菌，病毒，线粒体和宿主 DNA。
- **DNA 纯度:** 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR，高通量测序等各种分子生物学实验。
- **基因组 DNA 大小:** 一般经过震荡后，可回收到 15-20 kb 大小左右的基因组 DNA。
- **操作温度:** 室温 (15-30 $^{\circ}$ C)。

## **操作步骤:**

1. 直接添加 5g 以内的哺乳动物粪到裂解管中，然后添加 25 ml 的 DNA/RNA 保护剂到裂解管中，在涡旋仪上最大速下振荡 5 分钟以上混匀（如果使用高频振荡器时间可以适当缩短）。如破碎不完全会直接影响得率。
2. （选做）添加 100 $\mu$ l 的蛋白酶 K（浓度 20mg/ml）溶液到裂解管中，涡旋振荡 1 分钟，室温下孵育 1 小时。
3. 将裂解管放到离心机里，在 $\geq 3,000$  RPM 下离心 10 分钟。
4. 将上一步所得上清转移到一个 100ml 的塑料容器中，添加 50ml 的微生物 DNA 结合液到容器内，涡旋混匀，振荡 10 分钟。
5. 将 6 号柱+过滤柱连接到负压装置上，将上述混合液添加到过滤柱上，打开真空源，混合液完全通过 6 号柱，继续抽真空 10 分钟，防止结合液残留在 6 号柱上。
6. 取下 6 号柱套在一个 50ml 的离心管内，添加 10ml 的微生物 DNA 洗涤液 1 到 6 号柱内，在 $\geq 3,000$  RPM 下离心 5 分钟，去除滤出液。
7. 添加 15ml 的微生物 DNA 洗涤液 2 到 6 号柱内，在 $\geq 3,000$  RPM 下离心 5 分钟，去除滤出液。
8. 重复步骤 7。
9. 涡旋振荡磁珠取 200 $\mu$ l 添加到上述混合物中，上下颠倒混匀 10 分钟左右，每 2-3 分钟混匀几次。
10. 将 50mL 离心管放在磁力架上，静置 3 分钟，待磁珠充分吸附在管壁上，吸弃废液。
11. 将离心管从磁力架中取出，添加 500 $\mu$ l 的基因组 DNA 洗涤液 1，涡旋振荡直至磁珠从管壁上脱落，静置 3 分钟，再次放入磁力架中，静置 3min，待磁珠充分吸附在管壁上，吸弃废液。
12. 将离心管从磁力架中取出，添加 900 $\mu$ l 的基因组 DNA 洗涤液 2，涡旋振荡直至磁珠从管壁上脱落，静置 3 分钟，再次放入磁力架中，静置 3min，待磁珠充分吸附在管壁上，吸弃废液。
13. 重复步骤 8.
14. 用移液器尽可能多的吸净残余液体。
15. 将离心管开盖在 55 $^{\circ}$ C 下加热 10 分钟，如果没有加热模块可以在室温下放置 20-30 分钟。
16. 添加最少 600 $\mu$ l 的基因组 DNA 洗脱液混匀磁珠 10 分钟，期间反复抽吸。

17. 磁吸磁珠。将上清（含有洗脱的 DNA）转移到干净的管子中。
18. 将抑制物去除柱套在一个收集管内，添加600 $\mu$ l的抑制物去除液，在 $\geq 8,000 \times g$ 下离心3分钟。
19. 将洗脱的基因组DNA放入制备好的抑制物去除柱内，抑制物去除柱套在一个干净的1.5ml离心管内，并在16,000  $\times g$ 下离心3分钟，得到的DNA可进行后续PCR等试验。