

操作手册

粪便 DNA 提取试剂盒（离心柱法）

Catalog No. TD611-CM

Highlights

- 可最多 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。

产品组成:

试剂盒组成	保存	2 次
DNA/RNA 保护剂	室温	sample
微生物 DNA 结合液	室温	sample
微生物 DNA 洗涤液 1	室温	sample
微生物 DNA 洗涤液 2	室温	sample
基因组 DNA 裂解液	室温	sample
基因组 DNA 洗涤液 1	室温	sample
基因组 DNA 洗涤液 2	室温	sample
基因组 DNA 洗脱液	室温	sample
抑制物去除液	室温	sample
抑制物去除柱	室温	sample
5ml 过滤柱	室温	sample
6 号柱	室温	sample
2ml 收集管	室温	sample

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 DNA 裂解液或者基因组 DNA 洗涤液 1 可能出现析出和沉淀，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。

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。

- **基因组 DNA 回收情况:** 可从最少 300 μ l 洗脱液中可回收到基因组 DNA。

操作步骤:

粗提步骤:

1. 直接添加 5g 的哺乳动物粪便到 50ml 离心管中，然后等比例添加 25ml DNA/RNA 保护剂到离心管中。
2. 添加 5ml 左右的裂解珠到离心管内。（裂解珠的作用是为了增强裂解效果，无需精确定量）
3. 添加 100 μ l 的蛋白酶 K 溶液到离心管内，涡旋振荡 1 分钟，室温下放置 1 小时。
4. 将离心管放到离心机里，在 $\geq 3,000$ xg 下离心 10 分钟。
5. 准备一个 100ml 左右的塑料容器，将上一步上清约 20-25ml 移至容器内，添加 2 倍体积的直接添加 2 倍体积的微生物 DNA 结合液。混匀。
6. 将 6 号柱套在 50ml 过滤柱上并连接到真空多连器上，打开真空源然后将上一步的混合液加到 6 号柱内，反复操作直到混合液全部通过 6 号柱。（溶液全部通过 6 号柱后让真空源额外运行 5 分钟以去除残留液体）
7. 去除 50ml 过滤柱，将 6 号柱套在一个新的 50ml 离心管内。
8. 添加 10ml 微生物 DNA 洗涤液 1 到 6 号柱内，在 $\geq 3,000$ xg 下离心 5 分钟。
9. 添加 15ml 微生物 DNA 洗涤液 2 到 6 号柱内，在 $\geq 3,000$ xg 下离心 5 分钟，去除滤出液。
10. 添加 15ml 微生物 DNA 洗涤液 2 到 6 号柱内，在 $\geq 3,000$ xg 下离心 5 分钟，将 6 号柱放置到一个新的 50ml 离心管内。
11. 直接添加 3ml 基因组 DNA 洗脱液到 6 号柱内，在 $\geq 3,000$ xg 下离心 5 分钟。
12. 此时得到粗提的基因组 DNA。

纯化步骤:

13. 按照 3 倍体积量添加 9ml 基因组 DNA 裂解液到上述粗提 DNA 洗脱液中，混匀。
14. 将 5 号柱 E+15ml 漏斗套在一个新的 50ml 离心管内，将上述 12 ml 混合液直接添加到 15ml 漏斗内，在 $\geq 3,000$ xg 下离心 5 分钟。
15. 将 5 号柱 E 从 15ml 漏斗下拧下来，并套在一个 2ml 收集管内。在 $\geq 10,000$ xg 离心 1 分钟去除液体残留。
16. 添加 300 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 1 到 5 号柱 E 中，在 $\geq 10,000$ xg 离心 1 分钟。去除滤出液
17. 添加 400 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 5 号柱 E 中，在 $\geq 10,000$ xg 离心 1 分钟。去除滤出液
18. 添加 400 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 5 号柱 E 中，在 $\geq 10,000$ xg 离心 1 分钟。

19. 将 5 号柱 E 套在一个干净的 1.5ml 离心管内。
20. 添加最少 150 μ l 的基因组 DNA 洗脱液直接到 5 号柱 E 基质上，室温下放置 1 分钟。在 $\geq 10,000 \times g$ 离心 1 分钟洗脱基因组 DNA。
21. 将抑制物去除柱套在一个2ml收集管内，添加600 μ l的抑制物去除液，在 $\geq 8,000 \times g$ 下离心3分钟。
22. 将第20步洗脱的基因组DNA放入制备好的抑制物去除柱内，抑制物去除柱套在一个新的干净的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。