

A&DNext 粪便 DNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

A&DNext 粪便 DNA 纯化试剂盒 Cat. No.	5 次样品 A-4101005	50 次制备 A-4101050	250 次制备 A-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	1.2ml \times 5
Buffer S	4 ml	35 ml	175ml
Buffer ST	4 ml	32 ml	160ml
Buffer SL	1.2 ml	12 ml	60ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml	56ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	9.5 ml	50ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml	60ml
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 $^{\circ}$ C 贮存。
2. 其他试剂与物品如果储存于室温（15~25 $^{\circ}$ C），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 $^{\circ}$ C，可延长产品的有效期至两年以上（2~8 $^{\circ}$ C 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

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: tech@aderr.com 电话：010-57225208。

产品介绍

本产品适合从 180~220 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. 1.5ml 离心管和 2 ml 离心管（某些国产 2 ml 离心管 95 $^{\circ}$ C 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. 台式少量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
6. 水浴锅和旋涡震荡器

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25 $^{\circ}$ C。
- 2) 将水浴锅温度设置到 70 $^{\circ}$ C 和 95 $^{\circ}$ C，并将 Buffer ST 和 Buffer TE 在 70 $^{\circ}$ 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℃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180~220 mg固体粪便；如果粪便呈液态，则直接吸取200 μl粪便。
2. 加入600 μl 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。
3. 加入600 μl Buffer ST，盖上管盖，混合均匀，95℃ 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℃ 水浴5分钟。
4. 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。
7. 加入200 μl Buffer SL，旋涡振荡约15秒混匀。将离心管置于70℃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2ml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2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 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 2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。
11. 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 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2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 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2ml 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80~150 μl 70℃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℃备用。