



## Stool DNA Kit 粪便 DNA 提取试剂盒

### 产品简介

检测粪便中病原菌等微生物、以及一些未消化食物样品的DNA是现代诊断的重要手段。由于粪便中存在大量抑制因子，常规的DNA纯化方式不能有效地去除这些杂质，导致下游实验的失败，如PCR不能扩增出所需片段。Stool DNA Kit采用了简便的硅胶柱纯化方式和独特的溶液系统，能有效去除动物粪便中各种影响下游实验抑制因子，并能高效地回收粪便中的基因组DNA。一次可处理0.05-0.5g样品，纯化的DNA可直接用PCR等实验。

### 试剂盒组成

产品编号	D9101	D9105	D9106	D9107
次数	5	50	100	200
纯化柱子	5	50	100	200
收集管	5	50	100	200
Buffer C1	4ml	40ml	80ml	80ml*2
Buffer C2	1ml	6ml	12ml	24ml
Buffer C3	1ml	6ml	12ml	24ml
Buffer C4	1ml	10ml	16ml	35ml
Buffer C5	1ml	20ml	37ml	65ml
Glass Beads	2ml	20g	40g	80g
Buffer WB	2g	30ml	55ml	110ml
DNA Wash Buffer	2	13ml	26ml	26ml*2
说明书	1	1	1	1

### 储存和稳定性

室温保存，一年有效。Buffer C2与Buffer C3可能有沉淀产生，37℃水浴溶解后即可。

### 实验前准备

请详细阅读该手册并熟悉各个步骤，在开始之前准备好所有的试剂盒组分和必需的器材。

### 浓缩的DNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释：

D9101 加8 ml；D9105加入52 ml；D9106与D9107每瓶加入104 ml 无水乙醇

### 需自备器材

无水乙醇 1.5ml离心管 水浴 离心机

### 操作步骤

1. 称0.3-0.5g粪便置于2ml离心管中，加入0.4g Glass Beads，再加入780μl Buffer C1与100μl Buffer C2。涡旋器高速震荡3-5min。

注意：对含水量丰富的样品，可以预先离心除去部分水分后再称去样品。Buffer C2是我司独特的腐殖酸除去剂，100μl对大部分样品来说足以有效除去腐殖酸等抑制因子。对一些腐殖酸含量特别丰富的土壤，Buffer C2的量可以适当增加，但不能超过250μl，否则会严重影响DNA的得率。

2. 加入200μl Buffer C3 (C3如有沉淀37℃水浴完全溶解后再用)，涡旋混匀。70℃水浴处理10min。期间振荡几次。

注意：如果要纯化革兰氏阳性菌的DNA，请在70℃处理完后，再90℃水浴处理2min。

3. 12000 rpm (~13000×g)离心1钟，转600μl上清到1.5ml离心管中，加入180μl Buffer C4混匀。

注意：转移上清时确保不要吸取到沉淀，转移的上清量最好不超过80%。

4. 冰上放置5min。12000 rpm (~13000×g)离心1钟。转移上清到新的1.5ml离心管中。

注意：转移上清时确保不要吸取到沉淀，转移的上清量最好不超过80%。

5. 加入0.7倍体积的异丙醇颠倒混匀。12000 rpm (~13000×g)离心2钟。

注意：如果样品中DNA含量很低，加入异丙醇混匀后-20℃放置1小时。

6. 加入350μl Buffer C5，待沉淀完全溶解后加入300μl无水乙醇，混匀。

注意：为加速溶解沉淀，可置样品于55℃水浴中。

7. 取将上一步所得溶液入到GBC吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12000rpm离心30秒，倒掉滤过液重新套回收集管。

8. 向GBC吸附柱中加入500μl Buffer WB，12,000 rpm (~13,000×g)离心30秒，倒掉废液，将GBC吸附柱放入收集管中。

9. 向GBC吸附柱 中加入600μl DNA Wash Buffer (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm (~13,000×g)离心30秒，倒掉废液，GBC吸附柱放入收集管中。

10. 向GBC吸附柱 中加入600μl DNA Wash Buffer，12,000 rpm (~13,000×g)离心30秒，倒掉废液，将GBC吸附柱放入收集管中。

11. 12,000 rpm (~13,000×g)离心2分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

12. 将GBC吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加30-100μl洗脱缓冲液TE或灭菌去离子水，室温放置2min。

13. 室温下，离心(>13,000)1min，以洗脱DNA。保留含DNA的流出液。

注意：为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置2分钟，1,2000rpm离心2分钟。洗脱缓冲液体积不应少于50μl，体积过小影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。

## 可能出现的问题与对策

问 题	原 因	建 议
低 DNA 量	Buffer C2 使用过量	按说明书加入适量的 Buffer C2, DNA 含量的样品, 适当减少 C2 的量。
	洗脱液不足	重复洗脱或增加洗脱体积(见前面的注意事项), 加入 DNA 洗脱液并将柱子置于 70℃放置 5min 有助于提高产量。
	洗涤不恰当	DNA 洗涤缓冲液在使用前用无水乙醇按指示稀释。
低 A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> 比率	没有使用 Buffer WB 洗涤柱子	按说明书用 Buffer WB 洗涤柱子一次
	由于放置时间不够导致细胞裂解或蛋白降解不完全	延长放置时间, 确保没有可见的组织碎片剩余。
没有洗脱出 DNA	加入 Buffer C5 后没有加入无水乙醇	样品过柱前, 必须加入无水乙醇调整结合条件
	浓缩洗涤液没有加入乙醇	使用前用指定体积的乙醇稀释 DNA 洗涤缓冲液。
下游应用不好	提取的 DNA 含盐量高	DNA Wash Buffer 必须按说明书的要求, 用无水乙醇稀释
	提取的 DNA 含乙醇	洗脱前, 柱子必须高速离心 1min, 以彻底干燥硅胶膜
	抑制 PCR	增加 Buffer C2 的用量, 并且在第四步操作时, 确保不吸取到沉淀。

## 可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G3422	DAB 染色液	100ml
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2
G3424	RIPA 裂解液	100ml
P0018	ECL 发光液	100ml
G3418	TMB Solution For Blotting	100ml
G4308	TMB solution For Elisa	100ml
G3005	30%丙烯酰胺 (29:1)	500ml
G3403	40%丙烯酰胺 (37.5:1)	500ml
G0528	4%多聚甲醛	500ml
G3422	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	500T
G3155	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	1000T
G4256	10X 丽春红染色液	10ml

## 广州捷信斯生物科技有限公司

地址: 广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话: 020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB: www.gbcbio.cn