



Stool Genomic DNA kit

粪便基因组DNA提取试剂盒

目录号：CW2092S（50 preps）

保存条件：室温（15-30℃）

产品内容

Component	CW2092S
	50 preps
Buffer SW	60 ml
Buffer SL	60 ml
Buffer GL	50 ml
Buffer GW1（concentrate）	2X13 ml
Buffer GW2（concentrate）	15 ml
Buffer GE	15 ml
Spin Columns DM with Collection Tubes	50

产品简介

本试剂盒适用于从粪便样本中提取总DNA，包括样本中的细胞、细菌、寄生虫以及病毒的总DNA，也适用于含有高浓度PCR反应抑制剂的样本。本品可处理多至300 mg的粪便样本，纯化获得主要为20-30 kb的DNA片段，纯化过程中不需苯酚或氯仿等有毒溶剂，无需乙醇沉淀，可在一小时内获得高纯度的DNA。本试剂盒采用独特的缓冲系统使裂解液中的DNA高效结合到吸附柱上，同时粪便中的蛋白杂质及抑制下游反应的其他有机化合物可流过膜，PCR和酶反应的抑制剂以及残留的杂质可通过两步洗涤步骤有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度DNA。纯化得到的DNA可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

实验前准备及重要注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明预先在Buffer GW1和GW2中加入无水乙醇。
3. 使用前请检查Buffer SL和Buffer GL是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer SL和Buffer GL于56℃水浴重新溶解。
4. 如果下游实验对RNA污染比较敏感，可以在加入Buffer SL后加入4 μ l DNase-Free的RNase A (100 mg/ml)，RNase A本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购，货号:CW0601S。

操作步骤

1. 取**100-300 mg**粪便样本，置于离心管（自备）中。
2. 加入**1 ml Buffer SW**，涡旋振荡3-5分钟，使样本均匀分散于溶液中。12,000 rpm（~13,400×g）离心1分钟，弃上清。
3. 加入**1 ml Buffer SL**，涡旋振荡3-5分钟，使样本均匀分散于溶液中，65℃水浴20分钟，期间可每隔5分钟涡旋振荡15秒。

注意：如需去除RNA，可在上述步骤完成后，加入4 μl浓度为100 mg/ml的RNase A溶液（货号：CW0601S），震荡混匀，室温放置5-10分钟。

4. 12,000 rpm离心3分钟，将上清移至新的离心管（自备）中。
5. 向上清液中加入**等体积Buffer GL**，颠倒混匀15-25次，冰上放置5分钟。12,000 rpm离心5分钟。

注意：此时液体可能为透明或浑浊状态，均不影响实验。

6. 将步骤5中所得上清加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns DM）中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm（~13,400×g）离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入**500 μl Buffer GW1（使用前检查是否已加入无水乙醇）**，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
8. 重复步骤7。
9. 向吸附柱中加入**500 μl Buffer GW2（使用前检查是否已加入无水乙醇）**，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
10. 12,000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR等）。

11. 将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附柱的中间部位悬空滴加**50-100 μl Buffer GE或灭菌水**，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液，-20℃保存DNA。

注意：1）如果下游实验对pH值或EDTA敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的pH值对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（可以用NaOH将水的pH值调到此范围），pH值低于7.0时会降低洗脱效率。

2）离心之前室温孵育5分钟可以增加产量。

- 3) 用另外的50-100 μ l Buffer GE或灭菌水再次洗脱可以增加产量。
- 4) 如果要提高DNA的终浓度，可以将步骤11所得的DNA洗脱液重新加至吸附膜上，重复步骤11；可以增加DNA的终浓度，但可能会减少总产量。如果DNA的量小于1 μ g，推荐用50 μ l Buffer GE或灭菌水洗脱。
- 5) 保存在水中的DNA会受到酸性水解作用的影响，如需长期保存，推荐用Buffer GE洗脱并于-20 $^{\circ}$ C保存。
- 6) 基因组DNA模板中残余的微量PCR抑制物可能对PCR反应产生不良影响，可将DNA稀释2-10倍通常即可解决。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途