

M5 Stool Genomic DNA Kit

粪便基因组提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Stool Genomic DNA Kit	50T	MF114-01
M5 Stool Genomic DNA Kit	200T	MF114-02

【储存条件】

常温运输，室温（15~30℃）保存。

【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。

【产品组份】

	50T	200T
Buffer SW	60 ml	240ml
Buffer SL	60 ml	240ml
Buffer GL	50 ml	200ml
Buffer GW1 (concentrate)	13ml	52ml
Buffer GW2 (concentrate)	15 ml	60ml
Buffer GE	15 ml	30ml
Spin Columns DM		
With Collection Tubes	50	200

【实验准备】

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 μl DNase-Free 的 RNase A (100 mg/ml)。

【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°C 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，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°C 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 μl 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 μg，推荐用 50 μl 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°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。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。