天净沙系列

CAT#:220608

常温运输及保存

粪便 DNA 纯化试剂盒（过柱法）

Fecal DNA Purification Kit (Column Method)

使用手册 V1.01

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品专门用于从各种动物粪便中快速提取高质量的 DNA，它具有下列特点:

1. 操作简单快速，一个样品只需要十多分钟的时间。
2. DNA 更加纯净，OD260/280 一般都在 1.8 以上，得到的 DNA 样品原液或稀释液可以直接用于 PCR 扩增。
3. 每次微量提取可以处理 100-300 mg 左右的样品，能得到 5 μg 左右 DNA，片段长度在 25 Kb 左右。
4. 可以同时提取到肠道上皮细胞和可能的肠道病原菌的 DNA。
5. 试剂无毒无害,环保。
6. 本产品足够 50 次微量粪便 DNA 提取。
7. 本产品只能科研使用。

规格及成分

本产品使用大纸盒包装

成份	编号	规格	包装材料
粪便 DNA 纯化溶液 A	220608a	25 mL	30 mL 本色瓶
粪便 DNA 纯化溶液 B	220608b	25 mL	30 mL 本色瓶
专用上注液	220608c	40 mL	60 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL 本色瓶
DNA 洗脱液（基因组纯化用）	220125	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	220608sc	1 份	无

运输及保存

常温运输及保存，有效期一年。

自备试剂

氯仿。

使用方法

1. 65℃预热粪便 DNA 纯化溶液 A，待其沉淀溶化后充分混匀，取 0.5 mL 加入到 1.5 mL 塑料离心管中并放置于 65℃待用。
2. 称取 0.1-0.3 g 的粪便，加入到含预热的粪便 DNA 纯化溶液 A 的离心管中，震荡器上剧烈震荡 5-10 分钟。如果是扩量操作，可以使用更多粪便和较大离心管。也可以将同一种粪便在较大离心管中震荡处理，然后再分到 1.5 mL 离心管中。注意:不论使用大的还是小的离心管，一定要让管底的粪便震荡起来。注：保存液种类繁多，如粪便如保存在各种保存液中，需自行尝试效果。
3. 将离心管置于 65℃水浴中保温至少 5 分钟。
4. 14000×g 室温离心 3 分钟，将上清转移到一新离心管中(上清液一般呈淡黄色或深棕色，实际颜色随样品而异，上清液的体积一般为 300-400 μL)。

	5. 在上清液中加入等体积的粪便 DNA 纯化溶液 B，上下颠倒 30 秒充分混匀，溶液将呈白色或淡黄色混浊状。 6. 将离心管冰浴至少 5 分钟。 7. 14000×g 室温离心 3 分钟，转移上清到新的 1.5 mL 离心管中，上清液颜色将比第 4 步得到的上清的颜色稍淡，体积在 0.7 mL 左右。 **注意：下面第 8 和第 9 步的氯仿抽提操作可以省略，直接进入第 10 步，但 DNA 的产量会低 50%左右，OD260/280 在 1.7-1.8。如果直接进入第 10 步，则转移的溶液体积不要超过 0.6 mL，否则没有空间加专用上注液。** 8. 加入 0.2 mL 的氯仿(自备)，震荡器上充分振荡 30 秒混匀。注意:一定要让管底的溶液震荡起来。 9. 14000×g 室温离心 3 分钟，小心转移上清到新离心管中。说明：离心后两相交界面将有白色膜状物，其中有机相部分颜色较深，一般呈淡棕色。将 0.5 mL 上清转移到新的 1.5 mL 离心管中。如果有多余的可以弃之不用。 10. 加入 0.8 mL 的专用上注液，上下颠倒 30 秒混匀。 11. 分两次上柱（即先转移一半的混合液到离心吸附柱中，14000×g 室温离心半分钟，弃穿透液，然后再将剩下的混合液到离心吸附柱中，14000×g 室温离心半分钟，弃穿透液）。 12. 加 0.7 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，14000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。 13. 再加 0.3 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，14000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。增加一步洗涤能使最后得到的 DNA 的纯度稍有提高，但产量稍微有所降低。 14. 14000g 室温再离心半分钟。此步十分重要，否则残留的通用洗柱液会污染 DNA。 15. 将离心吸附柱转移到一新的 1.5 mL 塑料离心管中，加入 100 μL DNA 洗脱液（基因组纯化专用）。 16. 室温放置离心吸附柱 1-2 分钟。 17. 14000×g 室温离心半分钟，离心管中溶液即为 DNA 样品，可以立即使用或存放于冰箱待用。 18. 由于粪便来源内容成分较为复杂，得到的 DNA 中可能含有 PCR 抑制物，如后续需要进行 PCR 扩增，建议进行梯度稀释或者尝试选购天净沙 DNA 溶液扩增抑制物去除试剂盒。
关联产品	DNA 溶液扩增抑制物去除试剂盒