

版本号: DP210831

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057 /400-810-6057 TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD

1

TIANamp Stool DNA Kit 粪便基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP328

产品内容

产品组成	DP328 (50 preps)
缓冲液SA (Buffer SA)	30 ml
缓冲液SC (Buffer SC)	5 ml
缓冲液SH (Buffer SH)	10 ml
缓冲液GFA (Buffer GFA)	10 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	13 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml
Proteinase K	1 ml
RNase A (10 mg/ml)	600 µl
1 mm研磨珠(1 mm Grinding Beads)	15 g
RNase-Free吸附柱CR2 (RNase-Free Spin Columns CR2)	50 个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes(2 ml)	50 个

储存条件

该试剂盒所有组分置于室温(15-30°C)干燥条件下,可保存15个月。若溶液产生沉淀,使用前可在37°C水浴中预热10 min以溶解沉淀,不影响效果。

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特沉淀系统提取粪便样本的基因组 DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司新型材料,能够高效、专一吸附DNA,可有效去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。独特沉淀剂可以有效去除样品中的杂质。提取的基因组DNA片段大、纯度高、质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的DNA可直接用于PCR等其它分子生物学下游实验。

产品特点

适用广泛: 适用于不同来源的固态或液态粪便样本。

简单快速: 1 h内即可获得高质量的基因组DNA。

高纯度: 高效的沉淀剂去除腐殖酸等杂质,提取的DNA纯度很高,可直接用于下游实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- 1. 样品应避免反复冻融,否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
- 2. 若缓冲液SA或SC中有沉淀,可在37℃水浴中重新溶解,并摇匀后使用。
- 3. 建议充分混匀样品,如果样品混匀不充分可能影响裂解效率,最终影响得率和比值。
- 4. 如果样品吸水较多,可以等比例增加缓冲液SA和SC的量,如果缓冲液SA和SC不足,可单独购买。

操作步骤

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇,缓冲液GFA中加入异丙醇,加入体积请参照瓶上的标签。

1. 称取粪便样本180-220 mg至2 ml离心管中,并将管子置于冰上。

注意: 如果是液态样本则转移200 µI至离心管中。

- 向样本中加入500 μl缓冲液SA, 100 μl缓冲液SC, 15 μl Proteinase K, 0.25g的研磨珠 间歇振荡1 min至样本充分混匀或使用TGrinder H24组织研磨均质仪(OSE-TH-01)混匀 (6M/S的速度振荡30s, 间隔30s, 共2个循环)。
- 3. 70℃孵育15 min, 孵育期间震荡2-3次。

注意:对于较难破壁的革兰氏阳性菌,可将温度提高至95°C以促进裂解。

- 3. 涡旋15 sec, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心3 min, 转移上清液至新的离心管中, 加入10 μl的RNase A, 震荡混匀后室温放置5min。
- 5. 加入200 µl缓冲液SH, 震荡混匀, 置冰上5min。
- 6. 12,000 rpm (~13,400×g)离心3 min。
- 7. 将上一步所得上清液转移至新的1.5 ml离心管,加入等体积缓冲液GFA (使用前请先检查是否已加入异丙醇)。
- 8. 将上一步所得溶液加入到一个吸附柱CR2中(吸附柱放入收集管中), 12,000 rpm (~13,400×g)离心30 sec, 倒掉废液,将吸附柱CR2放入收集管中。
- 9. 向吸附柱CR2中加入500 μl缓冲液GD <u>(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)</u>, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心30 sec, 倒掉废液,将吸附柱CR2放入收集管中。
- 10. 向吸附柱CR2中加入700 μl漂洗液PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm (~13,400×g) 离心30 sec, 倒掉废液, 吸附柱CR2放入收集管中。
- 11. 重复操作步骤10。
- 12. 将吸附柱CR2放回收集管中,12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min,倒掉废液。将吸附柱CR2置于室温放置数分钟,以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意:这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除,漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应(酶切、PCR等)实验。

13. 将吸附柱CR2转入一个干净的离心管中,向吸附膜的中间部位悬空滴加50 μl洗脱缓冲液 TB, 室温放置2-5 min, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心2 min, 将溶液收集到离心管中。

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CR2中,室温放置 2 min,12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。 若用ddH $_2$ O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°C,以防DNA降解。

DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD260处有显著吸收峰,OD260值为1相当于大约50 μg/ml双链DNA、40 μg/ml单链DNA。

 OD_{260}/OD_{280} 比值应为1.7-1.9,如果洗脱时不使用洗脱缓冲液,而使用 ddH_2O ,比值会偏低,因为pH值和离子存在会影响光吸收值,但并不表示纯度低。



TIANGEN 官方微信,专业服务助力科研:

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
 - 147 VIII 244
- 全线产品查询

- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

坚持 "CUSTOMER FIRST"理念 秉承"质量为天,服务为根"宗旨!

TIANGEN为您提供从样本处理, 核酸纯化到下游检测的整体解决方案

科研试剂

- 样本保护与处理
- 磁珠法外泌体系列
- 基因组 DNA 提取
- 质粒提取
- 总 RNA 提取
- DNA 产物纯化 / 胶回收
- PCR 系列

- NGS 文库制备
- 表观遗传学
- RT-PCR 系列
- 荧光定量 PCR 系列
- 克隆和点突变
- DNA 分子量标准
- 蛋白表达和检测

科研解决方案

- 快速分子克隆整体解决方案
- 基因表达分析快速解决方案
- 环境微牛物解决方案
- 复杂样本 RNA 解决方案