

3. 转移 500  $\mu\text{L}$  上清液至 2 mL 离心管中，加入 20  $\mu\text{L}$  Proteinase K 和 500  $\mu\text{L}$  Buffer DL 至上清液中。颠倒混匀，70°C 消化 10 分钟。
4. (可选) 若需要去除 RNA，可加入 10  $\mu\text{L}$  RNase A (10 mg/mL) 溶液 (客户自备)，颠倒混匀，室温放置 15 分钟。
5. 加入 500  $\mu\text{L}$  无水乙醇至混合液，涡旋混匀 15 秒。
6. 把 DNA Mini Column 装在 2 mL 收集管中。转移一半体积的混合液至柱子中，12,000 x g 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液把柱子装回收集管中。把剩余的混合液转移至柱子中，12,000 x g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600  $\mu\text{L}$  Buffer AW1 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600  $\mu\text{L}$  Buffer AW2 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。12,000 x g 离心 3 分钟。
11. 将柱子装在新的 1.5 mL 离心管中。加入 30~50  $\mu\text{L}$  预热至 70°C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 2 分钟，12,000 x g 离心 1 分钟。
12. (可选) 再加入 30~50  $\mu\text{L}$  预热至 70°C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 2 分钟，12,000 x g 离心 1 分钟。
13. 弃去柱子，把 DNA 保存于 -20°C。

## 常见问题

### 1. 柱子堵塞

- 样品用量太多：减少样品用量。
- Proteinase K 活性下降：重新制备 Proteinase K。使用后 Proteinase K 保存于 -20°C。

### 2. DNA 产量低

- 样品消化不充分：推荐使用 2 mL 匀浆管对样品进行匀浆，以提高粪便分散效果。
- Buffer AW1 和 Buffer AW2 中乙醇没有加入或加入量不够：按瓶子标签所示，加入正确的乙醇。



## EasySC DNA Purification Kit from stool 粪便 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)

### 产品概述

EasySC DNA Purification Kit from stool 采用硅胶柱纯化技术和独创的抑制因子吸附技术，可高效地吸附溶液中的腐殖酸等抑制因子。试剂盒适合于从  $\leq 0.2$  g 的粪便样品中提取高纯度的微生物或宿主细胞 DNA。纯化得到的 DNA 可直接用于各种常规操作，包括 PCR、Southern 杂交、酶切、测序等实验。

### 产品特点

- ❖ 重复性好 - 硅胶柱纯化技术，每次都能获得理想的结果；
- ❖ 高纯度 DNA - 独特的吸附剂可彻底去除抑制因子；
- ❖ 高回收率 - 可回收低至 pg 级的 DNA；
- ❖ 安全 - 无需酚氯仿抽提，无需醇类沉淀。

### 适用范围

从动物粪便样品中提取总 DNA。

### ABP Biosciences Inc

安迪福诺生物科技(武汉)有限公司

地址：武汉市东湖新技术开发区高新大道666号

光谷生物城生物创新园C2-4栋五楼

电话：400-066-7718 邮箱：info@abpbio.com

网址：www.abpbio.com www.abpbio.com.cn



## 试剂盒组分

Kit Component	D123-1 (50 preps)	D123-2 (200 preps)
Buffer ASL	50 mL	200 mL
Buffer DL	25 mL	100 mL
Buffer AW1*	15 mL	60 mL
Buffer AW2*	15 mL	50 mL
Buffer AE	15 mL	50 mL
Proteinase K (20 mg/mL)	1.1 mL	4.4 mL
Mini Column	50	200
2 mL Collection Tube	50	200

\* Buffer AW1, Buffer AW2 使用前须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

## 保存条件

本试剂盒除 Proteinase K 外, 可在室温保存 12 个月。Proteinase K 室温运输, 收到试剂盒后请保存于 -20 °C。Buffer ASL 和 Buffer DL 放置时可能会有沉淀出来, 使用时须加热至 55 °C 使沉淀消失。

## 实验准备

在使用之前, 请仔细阅读本说明书, 以便熟悉每一步的操作。

- 按瓶子标签所示, 加入适量的无水乙醇至 Buffer AW1, Buffer AW2 中, 于室温保存。
- 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。
- 准备 10 mg/mL 的 RNase A。
- 所有离心均在室温下进行。

## 实验步骤

### 方案 1: 从粪便样品中提取宿主细胞 DNA

- 取约 0.2 g 粪便样品至 2 mL 离心管中。若样品是液体状态, 吸取 0.2 mL 液体样品至 2 mL 离心管中。加入 1 mL Buffer ASL 至样品中, 最高速涡旋 1 分钟打散样品。

- 室温下, 13,000 x g 离心 10 分钟。
- 转移 500  $\mu$ L 上清液至 2 mL 离心管中, 加入 20  $\mu$ L Proteinase K 和 500  $\mu$ L Buffer DL 至上清液中。颠倒混匀, 70 °C 消化 10 分钟。
- (可选) 若需要去除 RNA, 可加入 10  $\mu$ L RNase A (10 mg/mL) 溶液 (客户自备), 颠倒混匀, 室温放置 15 分钟。
- 加入 500  $\mu$ L 无水乙醇至混合液, 涡旋混匀 15 秒。
- 把 DNA Mini Column 装在 2 mL 收集管中。分批转移第五步获得的混合液 (每次 600  $\mu$ L) 至柱子中, 12,000 x g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600  $\mu$ L Buffer AW1 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600  $\mu$ L Buffer AW2 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。12,000 x g 离心 3 分钟。
- 将柱子装在新的 1.5 mL 离心管中。加入 30~50  $\mu$ L 预热至 70 °C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 2 分钟, 12,000 x g 离心 1 分钟。
- (可选) 再加入 30~50  $\mu$ L 预热至 70 °C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 2 分钟, 12,000 x g 离心 1 分钟。
- 弃去柱子, 把 DNA 保存于 -20 °C。

### 方案 2: 从粪便样品提取微生物 DNA

- 取约 0.2 g 粪便样品至 2 mL 离心管中或合适的匀浆管中, 按高温裂解或珠磨法进行处理。
  - 高温裂解法 (细菌类):
    - 加入 1 mL Buffer ASL 至样品中, 最高速涡旋 1 分钟打散样品。
    - 70 °C 水浴 20 分钟。若需要提取难裂解细菌 DNA 时, 把水浴温度提高至 90 °C。
    - 室温下, 13,000 x g 离心 10 分钟。按第 3 步进行操作。
  - 珠磨法 (需要获取真菌 DNA)
    - 加入 1 mL Buffer ASL 至样品中, 在珠磨仪上进行高速珠磨。
    - 65 °C 水浴 10 分钟。
    - 室温下, 13,000 x g 离心 10 分钟。按第 3 步进行操作。