

## Stool DNA Extraction Mini Kit

### 粪便 DNA 小量提取试剂盒

本产品适合于从粪便等样品中提取 DNA。试剂盒基于吸附柱纯化技术，在提取过程中根据 DNA 吸附柱特定条件下与核酸特异性结合的特点，达到快速分离纯化核酸的效果。快速分离纯化过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 40~60 分钟，提取的 DNA 纯度高，稳定性好。得到的 DNA 可直接用于 PCR 及其他下游实验。

### 产品组份

产品编号	DNS362-01 (10 Preps)	DNS362-02 (50 Preps)	DNS362-03 (250 Preps)
Buffer STL	8 ml	35 ml	175 ml
Buffer W1A	4.4 ml	22 ml	110 ml
Buffer W2A	3 ml	15 ml	2×40 ml
Buffer EB	2 ml	10 ml	50 ml
Buffer IRP	3 ml	15 ml	75 ml
Buffer MBL	6 ml	30 ml	150 ml
Proteinase K	220 µl	1.1 ml	5.5 ml
RNase Solution	60µl	300 µl	1.4 ml
DNA Extraction Mini Columns II	10	50	250
2ml Collection Tube	10	50	250
Glass Beads Tube I	10	50	250

## 保存条件

本产品可在室温(15~25℃)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer STL 及 Buffer W1A 可能会有沉淀形成，需 37℃ 水浴让沉淀完全溶解。

## 准备事项

- Buffer W1A/W2A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

## 样品前处理：

1. 在研磨管（Glass Beads Tube I）中加入 0.2g 粪便样品（若为液体样品，加入 200μl 样品），之后加入 600μl Buffer STL 及 20μl Proteinase K，最高速度涡旋混匀 5min，也可采用研磨仪进行混匀（具体参数根据仪器型号进行调整）。
2. 70℃加热 15 分钟进一步裂解样品。
3. 恢复至室温，加入 200μl Buffer IRP 至样品中。充分涡旋震荡混匀，冰上或 4℃ 放置 5 分钟。13,000x g 离心 3 分钟。上清液待用。

该步骤可在上清液中加入 5μl RNase Solution，室温放置 10 分钟彻底去除 RNA。

## 纯化步骤

1. 转移 450μl 上清液至 2ml 离心管中，加入 450μl Buffer MBL，颠倒 3~4 次，涡旋混匀 15 秒。
2. 55℃放置 10 分钟，期间颠倒混匀数次。
3. 加入 450μl 无水乙醇，涡旋混匀 15 秒，短暂离心。
4. 把 DNA Extraction Mini Columns II 装在 2ml 收集管中。把第 3 步的混合液转移 700μl 至过滤柱中。13,000 x g 离心 20 秒。
5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移剩余混合液至柱子。13,000 x g 离心 30 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 700μl Buffer W1A 至柱子上。13,000 x g 离心 10 秒。

7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 600 $\mu$ l Buffer W2A 至柱子中，13,000  $\times$  g 离心 10 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 600 $\mu$ l Buffer W2A 至柱子中，13,000  $\times$  g 离心 10 秒。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。13,000  $\times$  g 离心 2 分钟。  
对于敏感应用，可打开柱子盖子室温晾干 10 分钟彻底去除乙醇。
10. 将柱子转移至 1.5ml 离心管。加入 30~100 $\mu$ l Buffer EB 至柱子膜中央。室温静置 3 分钟，13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。  
柱子最小的洗脱体积是 30 $\mu$ l，若对产量要求较高，推荐进行第二次洗脱，将洗脱液重新加至柱子膜中央，室温静置 3 分钟，13,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
11. 弃去柱子，把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

## 常见问题

### 1. DNA 产量低

- 样品前处理过程中必须涡旋足够长的时间充分打散粪便样品。
- 加入 Buffer MBL 后未充分混匀。

### 2. 下游结果不理想

- **腐殖酸残留**：加入 Buffer IRP 后必须充分涡旋混匀，对于腐殖酸含量高的样品冰浴不可省略，经过离心后上清颜色应该明显变淡。
- **转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀，导致 DNA 纯度下降。**
- **洗脱不充分**：可将洗脱液预热至 60℃ 后再进行洗脱，提高洗脱效率。

### 3. 纯度低

- **洗涤不充分**：必要时可进行两次 W1A 洗涤，充分洗去杂质。
- **转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀。**