

HiPure Stool DNA Mini Kit

粪便 DNA 小提试剂盒

产品简介

本试剂盒采用珠磨法与柱法纯化技术相结合，适合从不超过 200mg 粪便样品中快速提取高纯度总 DNA。纯化柱优选高性能的超细玻璃纤维滤膜为材料，高效、专一吸附 DNA。试剂盒采用硅胶柱纯化技术和独创的高盐介导吸附方法，可高效去除 RNA 和抑制因子，整个过程无需酚氯仿的提取剂可高效地吸附溶液中的腐殖酸等抑制因子。纯化的 DNA 可直接用于 PCR、Southern 杂交、酶切、二代测序等实验。

产品组份

产品编号	D3141-01F	D3141-02F	D3141-03F
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure DNA Mini Columns II	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
氧化锆珠(0.6~0.8mm)	15 g	60 g	300 g
塑料小勺子	2 个	4 个	10 个
Buffer STL	10 ml	40 ml	180 ml
Buffer SL	1.2 ml	5 ml	25 ml
Buffer PCI	5 ml	20 ml	90 ml
Buffer GWP	15 ml	70 ml	2 x 170 ml
Buffer GW2*	6 ml	20 ml	2 x 50 ml
Elution Buffer	5 ml	15 ml	60 ml

版本：202401

保存条件

本产品除 Buffer PCI 外，可在室温(15~25℃)保存 18 个月。Buffer PCI 室温运输，收到产品后把 Buffer PCI 保存于 2~8℃。

准备事项

- Buffer GW2 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤

1. 在 2ml 离心管或螺口离心管，加入一勺氧化锆珠（0.6-0.8mm）和 50~200mg 粪便样品，100~200µl 液体样品，或 200~300µl 含保存液的粪便悬液。

人类粪便样本可能含有未消化的食物物质（例如，作物或水果壳，未消化的种子），这些颗粒最好不要转移。动物粪便样本，降低样本量可能会得到更好的结果。非常干燥的粪便样品，如兔或小鼠粪便，可能会吸收裂解液，导致离心后样品体积不足。在这些情况下，建议减少粪便物质量，如 50mg。对于困难的粪便样本，如脂质、多糖或富含蛋白质的粪便，建议使用 60-100mg 开始提取，减少起始物质也可能提高裂解效率和 DNA 的纯度。

处理液体粪便样品，建议取 0.2ml 进行操作，若样品中水份较多，可以取转移的样品离心后去除多余的水份，残渣和残液总体积不要超过 0.2ml。

处理保存液处理的粪便样品，建议取 0.2~0.4ml 进行提取。

采用珠磨仪或水平转子的涡旋仪时，建议使用螺口冻存管，以防止液体泄漏。

2. 加入 600µl Buffer STL, 60µl Buffer SL 和 300µl Buffer PCI, 盖紧盖子。

3. 转移至涡旋仪上高速涡旋 10 分钟或使用珠磨仪进行高速珠磨 30-60 秒。

- 涡旋仪：推荐使用美基涡旋仪 MagMix A，这台涡旋仪带 2ml 离心管的夹具，可一次高效处理 10~20 个样品。
- Powerlyzer 珠磨仪：建议 2000rpm 珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 2000rpm 珠磨 30 秒。
- FastPrep24 珠磨仪：建议 5m/s，珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 5m/s 珠磨 30 秒。
- Tissue Lysis II 珠磨仪：建议 25Hz 珠磨 5 分钟，重新调整位置后再 25Hz 珠磨 5 分钟。

4. 室温下, 14,000 × g 离心 10 分钟。
5. 转移 600µl 上清液至 2ml 离心管中, 加入 600µl Buffer GWP, 颠倒混匀 6-8 次。
采用 Buffer GWP 介导时, HiPure DNA Mini Column II 最高载量只能达到 20µg。若样品中 DNA 产量超过 20µg, 可以加入 300µl 异丙醇至混和液中, 颠倒混匀 6-8 次, 再按第 6 步进行操作。
由于异丙醇会引起色素或其它杂质的沉淀, 当混合液颜色较深不要加入异丙醇。
6. 把 HiPure DNA Mini Column II 装在 2ml 收集管中。转移一半体积的混合液至柱子中。13,000 × g 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管, 转移余下的混合液至柱子。13,000 × g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管。加入 600µl Buffer GWP 至柱子。13,000 × g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管。加入 600µl Buffer GW2 至柱子。13,000 × g 离心 1 分钟。
Buffer GW2 须用无水乙醇稀释。按瓶子标签或说明书指示进行稀释。
10. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管。加入 600µl Buffer GW2 至柱子。13,000 × g 离心 1 分钟。
11. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。13,000 × g 离心 2 分钟甩干柱子。
12. 将柱子装在 1.5ml 离心管中。加入 50~100µl 预热至 65°C 的 Elution Buffer 至柱子的膜中央, 放置 3 分钟。13,000 × g 离心 1 分钟。
Elution Buffer 成分为 10mM Tris,pH8.5 可以用 Buffer TE 或灭菌水(pH>6.5)代替。
13. 把洗脱液再转移至柱子的膜中央, 放置 3 分钟。13,000 × g 离心 1 分钟。
14. 丢弃 DNA 结合柱。把 DNA 保存 2-8°C, 长期保存需保存于-20°C。

常见问题

1. 柱子堵塞

- **样品裂解不充分:** 样品与裂解液混匀不充分。重新提取，加入 Buffer AL 后先颠倒混匀 3~5 次，然后以最高速度涡旋让样品与 Buffer AL 充分混匀。
- **样品用量太多:** 减少样品量，处理复杂粪便样品，样品量控制在 50mg。

2. DNA 纯度不达标

- 参考柱子堵塞部分。

3. DNA 产量低

- 参考柱子堵塞部分。
- GW2 未加入乙醇稀释。
- 第四步加入乙醇后混匀不充分或乙醇加入的体积不够。
- 洗脱不充分: 洗脱液需加到膜中央，增加洗脱体积或次数。