



ELK Biotechnology
For research use only.

Stool Genome DNA Extraction KIT

粪便 DNA 纯化试剂盒说明书

货号	规格	储藏/有效期
EP012-50T	50T	室温/一年
EP012-200T	200T	室温/一年

产品介绍

本产品适合从 180~220 mg 新鲜的或者是冷冻贮藏的人或动物粪便中分离总 DNA。被溶解的粪便中的人或动物的基因组 DNA、病毒 DNA、细菌及寄生虫 DNA 均可结合到核酸纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，基因组 DNA 经 WB 和 RP 洗涤液洗涤后，用 Elution Buffer 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

试剂盒组成

成分	EP012-50T	EP012-200T	Storage
Solution SGE	80 ml	160 ml*2	RT
Solution InR	15 ml	60 ml	RT
Solution GA2	12 ml	48 ml	RT
Wash Buffer	70 ml	280 ml	RT
Solution RP	25 ml	100 ml	RT
Elution Buffer	10 ml	40 ml	RT
Proteinase K	525 μ l	2.1 ml	-20°C
吸附柱 G 柱	50 set	200 set	RT
说明书	1 copy	1 copy	RT

一、使用前准备

- 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C，本实验所有离心操作在 25°C 下进行。
- 将水浴锅温度设置到 70°C 和 95°C，并将 Buffer SGE 和 Elution Buffer 在 70°C 温育。
- 根据试剂瓶标签上的指示在 Wash Buffer 和 Solution RP 中加入无水乙醇，并在标签



ELK Biotechnology

For research use only.

的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

二、操作步骤:

1. 用自备的 **2 ml 离心管**称取 180~220 mg 固体粪便;如果粪便呈液态,则直接吸取 200 μ l 粪便。
2. 加入 1.4 ml Buffer SGE, 盖上管盖。旋涡振荡直至粪便充分散开,无大块颗粒存在。95°C 水浴 5 分钟。

注意: 如果仅需要检测肠道细胞 DNA 或者粪便中的革兰氏阴性细菌的 DNA, 则仅需 70°C 水浴 5 分钟。

3. 室温下, 12000 rpm 离心 1 分钟。
4. 吸取上一步上清液约 1.2ml 到新的 EP 管中,加入 1/5 体积的 Solution InR(使用前充分震荡混匀),充分震荡混匀,静置吸附 1min。
5. 12000rpm 离心 3min,吸取上清到新的 EP 管中。
6. **重复步骤 5 一次。**
7. 吸取 200 μ l **步骤 6** 中的离心上清加入到新的 1.5 ml 离心管中。
8. 吸取 10 μ l 蛋白酶 K 贮存液, 吹打混匀。
9. 加入 200 μ l Buffer GA2, 旋涡振荡约 15 秒混匀。将离心管置于 70°C水浴 10 分钟。
10. 加入 200 μ l 无水乙醇, 温和地翻转 4~6 次混和均匀。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。
11. 将上一步得到的混合液添加至本试剂盒提供的吸附柱 G 柱中(如一次无法加完,可分多次加入), 12,000 rpm ($\approx 13,400\times g$) 离心 1min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
12. 向吸附柱中加入 500 μ L Solution RP (使用前检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
13. 向吸附柱中加入 700 μ L Wash Buffer (使用前检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

注: 如需进一步提高 DNA 纯度, 可重复步骤 13。

14. 12,000 rpm 离心 2 min, 倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干。
注: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶促反应(酶切、PCR 等)。

15. 将吸附柱置于一个新的离心管(自备)中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 50-200 μ L Elution Buffer 或灭菌水, 室温放置 2-5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集 DNA



ELK Biotechnology

For research use only.

溶液, -20 °C保存 DNA。

注: 1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感, 可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响, 若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 (可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围), pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。

2) Elution Buffer 在 65-70 °C 水浴预热, 离心之前室温孵育 5 min 可以增加产量; 用另外的 50-200 μ L Elution Buffer 或灭菌水再次洗脱可以增加产量。

3) 如果要提高 DNA 的终浓度, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 室温放置 2-5 min, 12,000 rpm 离心 1 min; 若洗脱体积小于 200 μ L, 可以增加 DNA 的终浓度, 但可能会减少总产量。如果 DNA 的量小于 1 μ g, 推荐用 50 μ L Solution GE 或灭菌水洗脱。

4) 因为保存在水中的 DNA 会受到酸性水解作用的影响, 如需长期保存, 推荐用 Elution Buffer 洗脱并于 -20 °C 保存。

三、注意事项:

* 新鲜收集的粪便样本应及时放到 -20°C 或更低的温度贮存。即使室温放置 2-3 小时的粪便 (人粪便), 提取的 DNA 后也会观察到有降解现象; 如果放置的时间更长, 提取的 DNA 可能降解非常严重, 甚至观察不到电泳可见的 DNA 条带。