

## 粪便基因组 DNA 快速提取试剂盒

### Fecal Genomic DNA Extraction Kit (适用于从各种粪便中提取总基因组 DNA)

#### 产品包装

15-25°C 储存至少 24 个月

产品编号	产品名称	包装规格
YFXM0031	粪便基因组 DNA 快速提取试剂盒	50T

#### 试剂盒成分

名称	数量
Yfxbio® Mini Column (吸附柱)	50 个
Yfxbio® 2mL Colleciton Tube (2mL 收集管)	50 个
Yfxbio® BS (Column Balance Solution)	15mL
Yfxbio® FLS (Special Lysis Solution)	2× 50mL
Yfxbio® LS (Lysis Solution)	2× 50mL
Yfxbio® WB (Wash Buffer)	50mL
Yfxbio® WS (Wash Solution)	使用前加入 50mL 无水乙醇
Yfxbio® ES (Elution Solution)	15mL

#### 注意事项

- 1、详细阅读本说明书各步骤, 准备好所有试剂盒组分、异丙醇、研钵、研棒、药匙、1.5mL 和 2mL 灭菌离心管、37°C 和 65°C 温浴条件, 严格按照本说明书进行提取操作。
- 2、室温太低可能会造成 Yfxbio® FLS、Yfxbio® LS、Yfxbio® WB 浑浊或沉淀, 37-65°C 水浴锅温浴片刻至透明即可。
- 3、Yfxbio® WS 在第一次使用前需加入 50mL 无水乙醇, 室温储存, 每次用过之后立即拧紧瓶盖。

#### 产品介绍

翼飞雪粪便基因组 DNA 提取试剂盒采用独特的疏水膜技术, 彻底去除粪便中的各种干扰物, 快速提取高纯度的 DNA。

试剂盒采用独特的缓冲系统, 可从各种不同类型的粪便样本中快速提取包括革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、脱落细胞等的总 DNA。提取的基因组 DNA 可以用于酶切、cDNA 文库构建、RT-PCR、荧光定量 PCR 等后续分子生物学实验。

## 提取步骤

### 平衡吸附柱

1、把吸附柱套入收集管中, 加入 300 $\mu$ L Yfxbio® BS, 室温 13000rpm 离心 1min, 弃去滤液, 将吸附柱重新套入收集管, 待回收使用。

**注: 本步骤有利于提高 DNA 的提取产量和提取纯度。**

### 样品裂解

2、根据不同条件选择合适的具体方法

#### 2.1、液氮研磨

A. 取 10-30mg 新鲜粪便样品于研钵中, 加入少量液氮, 迅速研碎样品; 再加入液氮研磨, 重复研磨 3 次。将样品迅速转入 2mL 离心管, 加入 1000 $\mu$ L Yfxbio® FLS, 65 $^{\circ}$ C 水浴 15min, 期间混匀 2-3 次。13000rpm 室温离心 5min。

B. 小心将上清液转移至洁净的 2mL 离心管中, 加入 1.0-1.5 倍体积的异丙醇, 充分混匀, 13000rpm 室温离心 3min, 尽可能弃上清, 保留沉淀。

C. 向沉淀中加入 100 $\mu$ L Yfxbio® ES 彻底溶解, 然后加入 1000 $\mu$ L Yfxbio® LS, 混匀, 13000rpm 室温离心 3min, 取上清液转移进行后续 DNA 提取。

#### 2.2、微波炉加热

A. 取 10-30mg 新鲜粪便于 2mL 离心管中, 加入 1000 $\mu$ L Yfxbio® FLS, 强烈混匀, 尽量不保留大颗粒。65 $^{\circ}$ C 水浴 15min, 期间混匀 2-3 次。13000rpm 室温离心 5min, 将上清液转移至新的 2mL 离心管待用。

B. 将带有沉淀的离心管中放入普通微波炉, 最大功率下加热 1min, 结束后再加热 1min, 然后第三个 1min。加入 1000 $\mu$ L Yfxbio® FLS, 强烈混匀, 65 $^{\circ}$ C 水浴 15min, 期间混匀 2-3 次, 13000rpm 室温离心 5min, 上清液转移至另一新的 2mL 离心管。

C. 向 A 和 B 的上清液中分别加入 1.0-1.5 倍体积的异丙醇, 混匀, 13000rpm 室温离心 3min, 尽可能去上清, 向沉淀中分别加入 100 $\mu$ L Yfxbio® ES 溶解, 合并两个离心管的溶液。

D. 加入 1000-1500 $\mu$ L Yfxbio® LS, 混匀。13000rpm 室温离心 3min, 取上清液转移进行后续 DNA 提取。

### DNA 吸附

3、将上清液转移到吸附柱, 13000rpm 室温离心 30s, 弃滤液, 将吸附柱重新套回收集管中。

**注: 单次上柱的体积不得超过 700 $\mu$ L, 如上清液体积过大, 可分批上柱回收。**

4、(可选) 加入 30 $\mu$ L 浓度为 20-50 $\mu$ g/mL 的 RNase A 于柱膜上, 37 $^{\circ}$ C 静置 5-10min。

**注: 本步骤非必要, 因为本试剂盒中纯化柱对于 RNA 没有吸附能力, 如实验要求不能残留微量 RNA, 可采用本步骤。**

### DNA 漂洗

5、加入 700 $\mu$ L Yfxbio® WB, 室温 13000rpm 离心 30s, 弃滤液, 将吸附柱套入收集管。

6、加入 700 $\mu$ L Yfxbio® WS, 室温 13000rpm 离心 30s, 弃滤液, 将吸附柱套入收集管。

7、(可选) 用 700 $\mu$ L 70%乙醇(室温)洗涤柱子, 室温 13000rpm 离心 1min。

**注: 选做此步骤有利于提高提取 DNA 的纯度, 但不建议洗涤次数超过 2 次。**

8、弃去滤液, 将空柱套回收集管, 室温 13000rpm 离心 2min, 以甩干柱子基质残余的液体。

**注: 此步骤用以避免乙醇残留于 DNA 中, 从而对后续实验有严重影响。**

### DNA 洗脱

9、把吸附柱套入一新的 1.5mL 无酶离心管, 加入 50 $\mu$ L Yfxbio® ES 至柱膜中央, 65 $^{\circ}$ C 水浴 5-10min, 室温 13000rpm 离心 1min, 洗脱 DNA。

**注: 1) Yfxbio® ES 要尽量加入在柱膜的中央, 并确保最终全部覆盖柱膜。**

**2) 也可将 Yfxbio® ES 预热至 65 $^{\circ}$ C, 可以减少放置时间至 1min。**

10、DNA 可短期储存于 4 $^{\circ}$ C, 长期储存于 -20 $^{\circ}$ C。