

Version Number : 1.1



Stool DNA Isolation Kit

Cat.No.DE-05713

For genomic DNA purification from various stool samples

For research use only

Store at room temperature



目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	4
基因组 DNA 的应用	4
产品质量控制	4
试剂盒内容	5
产品信息	5
储存条件	5
试剂盒组分信息	6
DNA-Only Column 特性	6
基因组 DNA 提取得率和纯度	7
基因组 DNA 片段大小	7
注意事项	8
操作前准备事项	8
实验材料和设备	8
自备试剂	9
Lysozyme 溶液配制	9
安全性	9
操作指南	10
● 操作步骤	10
DNA 浓度及纯度测定	12
快速操作示意图	13
问题分析指南	14

产品介绍

本试剂盒提供了从各种来源的粪便样本中快速简便的提取细菌、食物残渣等基因组 DNA 的方法。粪便样品中存在大量的抑制因子，这些物质即使微量存在于纯化后的 DNA 中也会对下游反应，如对 PCR、限制性酶切等产生影响。因而纯化粪便 DNA 的关键在于如何有效的去除粪便中的抑制因子。

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的 DNA-Only Column、全新的 Foregene Protease 以及独特的缓冲液体系，可以有效的去除粪便中各种抑制因子，无需有机溶剂抽提或乙醇及异丙醇沉淀，在 40 分钟内即可完成对粪便样品中 DNA 的提取操作。

产品特点

- ◆ 无 RNA 酶污染：试剂盒提供的 DNA-Only Column 使得实验过程中无需额外添加 RNA 酶即可去除基因组 DNA 中的 RNA，避免实验室遭受外源 RNA 酶污染。
- ◆ 速度快：操作简单，粪便基因组 DNA 提取操作在 40 分钟内即可完成。
- ◆ 方便：离心操作均在常温，无需 4°C 低温离心或乙醇沉淀 DNA。
- ◆ 安全：无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高：提取获得的基因组 DNA 片段大、无 RNA、无 RNA 酶、离子含量极低，能满足各种实验的要求。

试剂盒应用

适用于纯化以下样本基因组 DNA：新鲜或冻存的人、牛、鸡、小鼠等粪便样本。

基因组 DNA 的应用

Stool DNA Isolation Kit 纯化获得的基因组 DNA 纯度高，可用于常规分子生物学操作，如：酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等实验。

产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System)，每一批次的粪便基因组 DNA 提取试剂盒都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

试剂盒内容

Stool DNA Isolation Kit 粪便基因组 DNA 提取试剂盒	
试剂盒组成	DE-05713
	50 T
Buffer SL1	30 mL
Buffer SL2	30 mL
Buffer SL3	30 mL
Buffer PW	25 mL
Buffer WB	25 mL
Buffer EB	15 mL
Buffer TE	55 mL
Foregene Protease	1.25 mL × 2
Lysozyme	500 mg
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	40 min (24 个样品)
离心机	台式离心机	组织酶解物分离	离心分离
纯化柱 DNA 承载量	80 µg	离心柱液体盛装量	800 µL
洗脱体积	50-200 µL	粪便样本处理量	50-200 mg

储存条件

- ◆ 本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。
注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。
- ◆ Foregene Protease 溶液具有独特配方，常温保存长期(3 个月)具有活性；在 4°C 保存，其活性和稳定性会更好，因此建议将其置于 4°C 保存，切记不能置于 -20°C 保存。
- ◆ 干粉 Lysozyme -20°C 保存；配制好的 Lysozyme 溶液分成小份 -20°C 保存。

试剂盒组分信息

Lysozyme: 酶解阳性菌细胞壁。

Buffer TE: 用于配制 100 mg/mL Lysozyme 的溶液和提供溶菌酶酶解环境。

Buffer SL1: 提供样本蛋白酶酶解环境。

Foregene Protease: 在蛋白酶酶解环境下酶解样本, 释放基因组 DNA。

Buffer SL2: 去油脂类杂质。

Buffer SL3: 失活蛋白酶并提供 DNA 上柱环境。

Buffer PW: 去除 DNA 中的蛋白质、RNA 等杂质。

Buffer WB: 去除 DNA 中的残留的盐离子。

Buffer EB: 洗脱纯化柱膜上的 DNA。

DNA-only Column: 特异吸附裂解产物中的基因组 DNA。

DNA-Only Column 特性

DNA最大结合能力(Maximum binding capacity)	80 µg
上清最大载量体积(Maximum loading volume)	800 µL
最大DNA片段(Longset DNA fragment)	23 kb
最小洗脱体积(Minimum elution volume) *	60 µL
最佳样本选取(Selection of samples)	新采取的粪便样本
样本最大初始量(Maximum amount of starting material) *	200 mg

*: 60 µL 的最小洗脱体系是在兼顾 DNA 回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高 DNA 的产量, 可以适当增加洗脱液体积; 如果为了提高纯化得到的 DNA 浓度, 在牺牲一部分 DNA 得率的前提下, 适当的减少洗脱液体积, 比如采用 40 µL 的洗脱体系, 以期得到更高浓度的 DNA。

基因组 DNA 提取得率和纯度

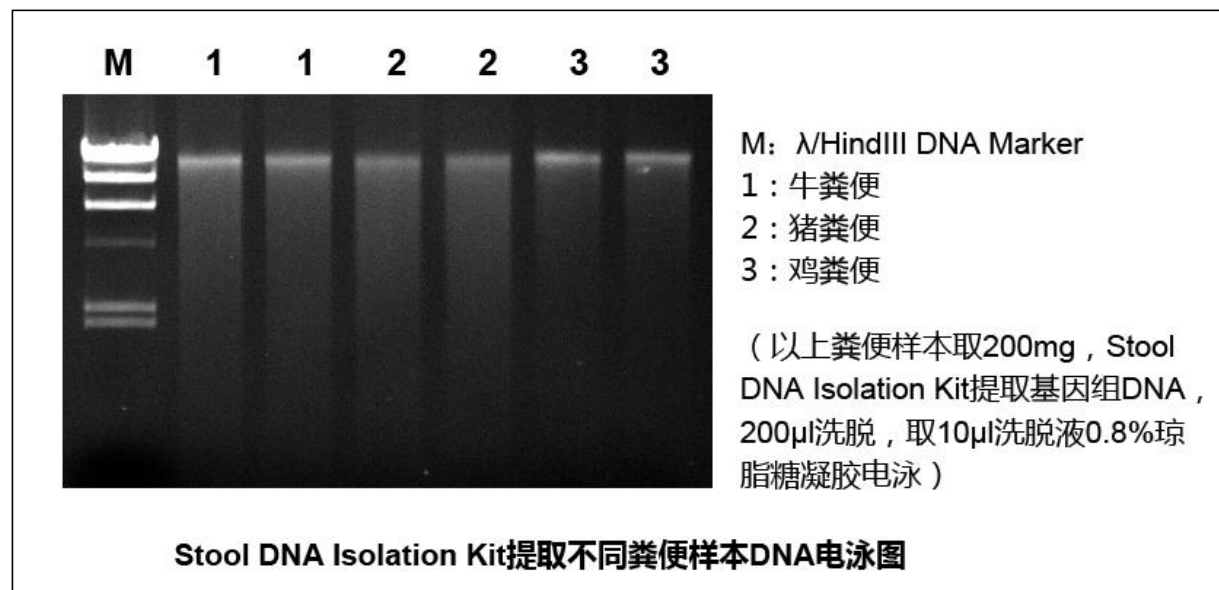
提取获得的粪便基因组 DNA 量与粪便样本的来源、存放时间、水分含量等因素相关。使用 Stool DNA Isolation Kit 处理各种来源粪便样本，获得的基因组 DNA 量和纯度见下表：

粪便来源	样本用量(mg)	DNA 产量(μg)	OD260/280	OD260/230
黄牛	200	4-6	1.7-1.9	1.7-1.9
家猪	200	4-6	1.7-1.9	1.8-1.9
家禽(鸡)	200	4-6	1.7-1.9	1.7-1.8

注意：此表数据仅作参考，实际操作中由于所用材料的存储条件、操作熟练度等因素影响，所得数据会与此表数据有些许出入。

基因组 DNA 片段大小

Stool DNA Isolation Kit 是采用硅胶膜柱分离纯化粪便基因组 DNA，如果样本保存的好或样本新鲜，纯化获得的基因组 DNA 片段大小均在 23 kb 附近；如样本保存时间较长或者在提取过程中操作不当，会导致基因组 DNA 降解，成弥散的条带。如图：



注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ◆ 每个粪便样本单次基因组 DNA 提取用量 50-200 mg 为宜。
- ◆ Buffer SL2 在使用前应充分混匀，形成悬浊液，否则会影响 DNA 的质量和产量。
- ◆ 使用前，仔细检查 Buffer SL3 和 Buffer PW 中是否有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置于 37°C 溶解，混匀后再使用。
- ◆ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB 在使用前分别添加 60 mL 无水乙醇(DE-05713)。
- ◆ 在样品裂解过程中，应始终保持样品浸于裂解缓冲液中，若样品黏附在管盖及内壁，可通过短暂离心进行处理。
- ◆ 洗脱体积： Buffer EB 不应少于 50 μ L，否则会影响 DNA 产量。
- ◆ 切记不要在任何 Buffer 中添加 RNA 酶。
- ◆ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ◆ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行。

操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。粪便基因组 DNA 提取试剂盒操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的完整信息和正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

实验材料和设备

- ◆ 各种来源的粪便样本 50-200 mg。
- ◆ 1.5 mL 或 2 mL 无菌离心管。
- ◆ 台式离心机($\geq 13,400 \times g$)、65°C 水浴或金属浴、移液器、涡旋仪等。

自备试剂

- ◆ 无水乙醇。

Lysozyme 溶液配制

使用前，Lysozyme 配制成浓度为 100mg/mL 的溶液。避免反复冻融，分装成小份后于-20°C保存。使用前，将 Lysozyme 溶液在室温下溶解，每个样品用量为 100 μ L。

DE-05713

溶于 5ml Buffer TE

安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床医疗、食品及化妆品等用途。
- ◆ 使用化学品时，穿戴合适的实验服，手套，防护眼镜等。
- ◆ Buffer SL1、Buffer SL2、Buffer L3、Buffer PW 含有胍盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer WB 含无水乙醇：易燃。
- ◆ Foregene Protease：增敏剂，刺激性。

操作指南

粪便基因组 DNA 提取试剂盒提供了一种快速处理土壤样本，纯化基因组 DNA 的方法，请严格按照粪便基因组 DNA 提取操作步骤进行相关实验。

材料取用说明

各种来源的粪便样本(新鲜或冻存的)，单次处理的粪便样本不超过 200 mg。

操作步骤 (请严格按照本操作说明进行相关实验操作)

使用前请先在 Buffer WB 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 称取 **50-200 mg** 粪便样品，置于 2 mL 离心管中。
注意：如果样本是悬浊液，可 13,300 rpm(17,000 ×g)离心 1 min，收集沉淀后再称取 50-200 mg 置于 2 mL 离心管中。
2. 向离心管中加入 **1 mL Buffer TE**、**100 μL Lysozyme**(配制方法见第 9 页)充分混匀后，37°C 摇床温浴 10 min(转速：180 rpm)。
3. 温浴结束后，13,300 rpm(~17,000 ×g)离心 1 min，用移液器吸除上清。
注意：应尽量吸净残留上清，以免影响后续操作。
4. 向留有沉淀的离心管中加入 **600 μL Buffer SL1**，**50 μL Foregene Protease**，上下颠倒充分混匀。
5. 将离心管置于 65°C 水浴或金属浴 5 min，其间上下颠倒充分混匀一次。
注意：颠倒混匀需剧烈晃动离心管约 5 sec，至离心管中的样品无结块，以便样本与裂解液充分反应。否则，将会影响 DNA 的得率和纯度。
6. 13,300 rpm(~17,000 ×g)离心 1 min，用移液器将上清液转移至新的 2 mL 离心管中，应避免吸到沉淀，弃掉留有沉淀的离心管。
7. 向留有上清液的离心管中加入 **600 μL Buffer SL2**，上下颠倒充分混匀，室温静置 2 min。
注意：Buffer SL2 在使用之前需充分混匀，形成悬浊液，无分层，无结块。否则，将会影响 DNA 的得率和纯度。

8. 13,300 rpm(~17,000 ×g)离心 1 min, 用移液器取 **600 μL** 上清液转移至新的 2 mL 离心管中, 应避免吸到沉淀
注意: 剩余的上清液可以弃掉或者将其转移至另一新的离心管中按体积比例加入 **Buffer SL3** 和**乙醇**进行步骤 9、10 和 11。例如剩余的上清液为 **400 μL**, 则按比例加入 **400 μL Buffer SL3** 进行步骤 9, 再加入 **160 μL 乙醇**进行步骤 10, 之后过柱。
9. 向离心管中加入 **600 μL Buffer SL3**, 上下颠倒充分混匀, 置于 65°C水浴或金属浴 5 min, 其间上下颠倒充分混匀一次。
10. 向离心管中加入 **240 μL 乙醇**(96-100%)涡旋充分混匀 10 sec, 瞬时离心收集附着在管盖和管壁的液滴。
11. 将离心柱放入收集管中, 取 **800 μL** 混合液加入离心柱(DNA-Only Column)中, 12,000 rpm(~13,400 ×g), 离心 1 min, 弃掉收集管中废液
12. 将离心柱放回收集管中, 将剩余混合液全部加入离心柱中, 12,000 rpm(~13,400 ×g), 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
13. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **500 μL Buffer PW**, 12,000 rpm(~13,400 ×g), 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
14. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **700 μL Buffer WB**, 12,000 rpm(~13,400 ×g), 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
15. 重复步骤 14 一次。
16. 将离心柱放回收集管中, 12,000 rpm(~13,400 ×g)空管离心 2 min, 去掉离心柱中残余的 Buffer WB。
17. 将离心柱移至新的 2 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **100 μL** 已于 **65°C**预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 5 min, 12,000 rpm(~13,400 ×g) 离心 1 min。再次向膜中央悬空滴加 **100 μL** 已预热的 **Buffer EB**, 12,000 rpm(~13,400 ×g) 离心 1 min。将两次收集的洗脱液合并。
注意: 如果希望提高 DNA 的浓度, 可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 1 min。另外, 样本量小于 100 mg 时, 建议洗脱体积为 60-100 μL。

DNA 浓度及纯度检测

- ◆ 得到的基因组 DNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。DNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。
- ◆ DNA 的 OD260 值为 1 相当于大约 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 双链 DNA。
- ◆ DNA 的 $\text{OD}260/280 \approx 1.7-1.9$ 。如果洗脱时不使用洗脱缓冲液 Buffer EB，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

快速操作示意图

50-200mg粪便



细菌破壁 { 1ml Buffer TE
100μl Lysozyme } 37°C ; 摇床10min(180rpm)



离心: 17,000 ×g ; 1min(弃上清液, 留样品沉淀)



样本酶解 { 600μl Buffer SL1
50μl Foregene Protease } (65°C ; 5min)



离心: 17,000 ×g ; 1min(去沉淀, 上清液转移至新的离心管中)



{ 除杂质: 600μl Buffer SL2 ; 混匀, 室温静置2min
离心: 17,000 ×g ; 1min(去沉淀, 上清液转移至新的离心管中)



{ 失活蛋白酶: 600μl上清液+600μl Buffer SL3(65°C ; 5min)
提供DNA特异吸附硅胶膜环境: 240μl 无水乙醇



吸附: 上柱吸附基因组DNA (13,400×g ; 1min)



{ 洗涤1: 500μl Buffer PW(13,400 ×g; 1min)
去蛋白、去RNA
洗涤2: 700μl Buffer WB 两次(13,400 ×g; 1min)
脱盐



离心: 空管离心(13,400 ×g; 2min)
去残留乙醇



洗脱: 60-200μl Buffer EB或ddH₂O(13,400 ×g; 1min)
(添加Buffer EB后室温5min, 再离心以增加洗脱效率)



问题分析指南

以下针对粪便样本基因组 DNA 提取中可能遇到的问题进行分析，希望能对您的实验有所帮助。另外，对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题，我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们：028-83360257 或 E-mail: Tech@foregene.com。

低产量或无 DNA

通常有多种因素会影响基因组 DNA 产量，包括样本来源、样本保存条件、样本的预处理、操作等。

提取过程中无法获得基因组 DNA

1. 粪便样本保存不当或保存时间太长，导致粪便里面的菌落死亡，基因组 DNA 已经降解。
建议：粪便样本保存于-20°C或者-80°C，并尽量避免反复冻融；尽量采用新近采取的粪便样本进行基因组 DNA 的提取。
2. 粪使用量过少。如果样本用量很少，可能导致提取不到相应的基因组 DNA。
建议：对于菌落含量较少的粪便样本，尽量使用 200 mg 样本进行基因组 DNA 提取操作。
3. 试剂盒保存不当或存放时间太长，导致试剂盒里面某些组分失效。
建议：购置新的粪便基因组 DNA 提取试剂盒进行相关操作。
4. Buffer WB 没有添加无水乙醇。
建议：确认 Buffer WB 中添加正确体积的无水乙醇。
5. 洗脱液没有正确滴加到硅胶膜上。
建议：将 65°C预热的洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 5 分钟增加洗脱效率。
6. 没有使用专用的试剂盒进行粪便基因组 DNA 的提取。
建议：使用粪便专用的 Stool DNA Isolation Kit 进行粪便基因组 DNA 的提取。

提取获得低产量基因组 DNA

1. 粪便样本保存不当或保存时间太长，导致粪便里面大量的菌落死亡，基因组 DNA 降解。
建议：粪便样本保存于-20°C或者-80°C，并避免反复冻融；尽量采用新近采取的粪便样本进行基因组 DNA 的提取。
2. 粪使用量过少，提取到的基因组 DNA 含量会较少。
建议：尽量使用 50-200 mg 样本进行基因组 DNA 提取操作，如样本量确实较少，可适当的进行增菌培养后再进行提取。
3. 洗脱液问题。
建议：请使用 Buffer EB 进行洗脱；如果使用 ddH₂O 或其他洗脱液，确认洗脱液的 pH 值在 7.0-8.5 之间。
4. Foregene Protease 保存不当，导致其活性降低或失活。
建议：确认 Foregene Protease 保存条件或者更换新的 Foregene Protease 进行酶解反应。
5. 洗脱液没有正确滴加。
建议：将 65°C预热的洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 5 分钟增加洗脱效率。
6. 洗脱液体积太少。
建议：请按说明书上要求使用洗脱液进行基因组 DNA 洗脱，最少不要低于 60 μ L。

提取获得基因组 DNA 纯度低

基因组 DNA 纯度低会导致下游实验的失败或效果不理想，如：酶切不开，PCR 得不到目的基因片段等。

1. 样品裂解不充分。
分析：加入 Buffer SL1 后，没有充分混匀，使得裂解液和样品不能较好的反应。
建议：务必按照说明书要求上下颠倒剧烈混匀 5 sec，使得裂解液可以和样品充分接触，完成裂解。
2. 杂质吸附不完全。
分析：在加入 Buffer SL2 前没有将 Buffer SL2 充分混匀后，或是在加入后没有充分混匀或加入 Buffer SL2 量较少，使得吸附剂不能完全吸附样品中的杂质。
建议：务必按照说明书要求在使用前 Buffer SL2 充分混匀，保证溶液没有分层和结

块，并加入正确体积的 Buffer SL2 并上下颠倒充分混匀，使得吸附剂可以和样品充分接触，起到彻底吸附杂质的作用。

3. 杂蛋白污染、RNA 污染。

分析：没有使用 Buffer PW 洗涤纯化柱；Buffer PW 洗涤纯化柱没有使用正确的离心转速。

建议：在上清液过柱时尽量保证上清液中无沉淀；务必按说明书进行 Buffer PW 洗涤纯化柱，并且此步骤不能省略。

4. 杂质离子污染。

分析：省略了 Buffer WB 洗涤纯化柱或者只洗涤了一次，导致残留的离子污染。

建议：务必按说明书使用 Buffer WB 洗涤 2 次，以尽量去除残留的离子。

5. RNA 酶污染。

分析：Buffer 中添加了外源的 RNA 酶；Buffer PW 洗涤操作不正确，导致 RNA 酶残留，影响下游 RNA 实验操作，如：体外转录等。

建议：Foregene 系列核酸提取试剂盒无需额外添加 RNA 酶即可去除 RNA，Soil DNA Isolation Kit 里面所有试剂均无需添加 RNA 酶；务必按说明书进行 Buffer PW 洗涤纯化柱，并且此步骤不能省略。

6. 乙醇残留。

分析：Buffer WB 洗涤纯化柱后，没有进行空管离心操作。

建议：按说明书进行正确的空管离心操作。

中国·凡晶 World's Foregene

成都凡晶生物技术有限公司

电话：028-83360257, 028-83361257

E-mail: info@foregene.com

[Http://www.foregene.com](http://www.foregene.com)

