**粪便基因组DNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2610**

**■ 产品简介：**

本试剂盒适用于从粪便中提取基因组DNA。结合先进的硅基质膜技术，能够专一的结合DNA，并最大限度去除粪便微生物中杂蛋白及其他有机物。本产品无需乙醇沉淀，1小时内即可完成总DNA的提取，具有高效、快速、方便之特点。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2610（50次）** |
| 平衡液LB | 30 ml |
| 裂解液LF | 60 ml |
| 缓冲液QF | 60 ml |
| 结合液LN | 60 ml |
| 缓冲液QK | 10 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 蛋白酶K | 1 ml |
| 吸附柱C1（含2 ml收集管） | 50个 |

**■ 保存条件**：

室温（15-25℃）

**■ 自备试剂**：

无水乙醇。

**■ 注意事项：**

1. 从新鲜采取的粪便中所提取得DNA产率更高。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在漂洗液PW中加入相应的无水乙醇。
3. 若下游实验对RNA污染较敏感，可在70℃水浴孵育后加入10 µl浓度为10 mg/ml的RNase A溶液，RNase A本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购。

**■ 操作步骤：**

（1）取约200 mg粪便样品，加入1 ml缓冲液QF，充分震荡混匀。

（2）12,000 rpm离心3 min，弃上清，加入1 ml裂解液LF，充分震荡混匀。

（3）将离心管置于70℃水浴5 min，其间颠倒离心管混匀样品数次。

（4）12,000 rpm离心1 min，转移500 µl上清至新的1.5 ml离心管，加入20 µl蛋白酶K（10 mg/ml）,将离心管置于70℃水浴10 min，其间颠倒离心管混匀样品数次。

**注：如需去除RNA，可在上述步骤完成后，加入10 µl浓度为10 mg/ml的RNase A溶液，震荡混匀，室温放置几分钟。**

（5）加入150 µl缓冲液QK，震荡混匀，12,000 rpm离心1 min，转移500 µl上清至新的1.5 ml离心管。（上清漂浮少量白色沉淀可以溶解于结合液中，不会对下游实验造成影响。）

（6）加入2倍体积的结合液LN，充分颠倒混匀。

（7）柱平衡：向吸附柱C1中加入500 µl平衡液LB，12,000 rpm离心1 min，弃收集管中滤液，将吸附柱放入收集管中。

（8）将混匀的液体转入吸附柱C1中，12,000 rpm离心30 s，弃掉废液。（吸附柱容积约为800 µl左右，可分次加入离心。）

（9）向吸附柱C1中加入600 µl漂洗液PW，12,000 rpm离心30 s，倒掉废液，将吸附柱C1放入收集管中。

**注：使用前请检查PW中是否加入无水乙醇。**

1. 重复操作步骤9。
2. 空柱12,000 rpm离心2 min。室温放置5-10 min，除去残留乙醇。

**注：漂洗液中的乙醇会影响后续酶促反映，此处应尽量晾干残留的漂洗液。**

1. 将吸附柱放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位滴加50-100 µl洗脱缓EB，室温放置1 min，12,000 rpm离心2 min洗脱DNA，可立即用于下游分子生物学实验或-20℃保存。

**注：将洗脱得到的溶液重新加入吸附柱中，重复步骤12可增加DNA得率。若后续实验对pH、EDTA敏感，需使用ddH2O做洗脱液。**