

粪便样品 DNA 保存液 使用说明书

产品编号：RE1081

保存：室温保存，保质期 3 年。

产品内容：

产品内容	RE1081-100mL
粪便样品 DNA 保存液	100mL
说明书	1 份

产品简介：

粪便样品 DNA 保存液可以在室温条件下保存 DNA 样品。它能迅速渗入细胞内，通过抑制 DNase 的活性而达到保护 DNA 的完整性的目的。

适用于不能及时进行 DNA 提取的粪便样品的采集。

保存液使用方法：

一：批量自采：

1：采便管准备

- 1) 患者采样盒中包括：采便管 2 管（每管装有 7.5ml 保护液以及 6-8 颗玻璃珠），冰袋 3 个。
- 2) 患者回家后，需将冰袋放入冰箱冷冻层，并在**送样当天**进行采便。

2：采便方式：

- 1) 准备一张纸在排便时将大便与便池水隔绝；
- 2) 采便时取中部未沾染便池水和尿液的大便；
- 3) 用采便管中的小勺挖取粪便，放入采便管中，盖紧管盖，放入采样盒中；

注意：2 个采便管都需要挖取粪便，每管挖取 3-4 勺粪便；

- 4) 从冰箱冷冻层中取出冻好的冰袋，放入蓝色采样盒中，以保持样品低温环境，并尽快送回医院。

二：少量自采

1: 在粪便样品中加入 3-5 倍体积的粪便样品 DNA 保存液。

保存时间说明:

1: 实测粪便样品 DNA 保存液, 于 4°C 可稳定保存 DNA 15-30 天; 于室温 ($\leq 30^{\circ}\text{C}$) 可稳定保存 DNA 7-15 天。

2: 如需长期保存, 可在粪便 DNA 提取步骤 3 中弃上清后直接 -20°C 或 -80°C 长期冻存。

粪便 DNA 提取:

1: 取 200 μL 样品匀浆至拧盖的 2mL 离心管。

样品匀浆制备:

1) 将采样管用漩涡震荡器, 混匀至无块状;

2) 用 1mL 注射器接 1mL 枪头搅拌;

3) 枪头 (1mL) 减去 1cm 左右, 吸之前摇匀, 尽量吸取内容物, 否则提取的 DNA 量过少;

2: 加入 1 mL PBS, 用漩涡振荡器混合均匀, 离心 (15000rpm, 5min, 4°C) 。

3: 弃 1mL 上清, 重复 2 一次。

4: 弃 950 μL 上清后, 加入 300 μL Tris-SDS, 500 μL Tris-饱和酚, 移入已加入 0.33-0.35g 玻璃珠 ($\phi 0.1\text{mm}$) 的 2mL 圆底离心管中。

5: 震荡呈乳白色, 在均质 (Beat-Bitter) 中均质 45s, 离心 (15000rpm, 5min, 4°C) 。

6: 将上层悬浊液 400 μL (2×200) 转移到一个新的离心管中 (圆头), 加入 200 μL Tris-酚, 200 μL 氯仿/异丙醇 (24: 1) 注: 中间白色为变性蛋白相不能碰。

7: 手摇 (10-20 次) (上下颠倒即可, 轻柔), 混匀呈白色, 离心 (15000rpm, 5min, 4°C) 。

8: 将 250 μL (2×125) 上层悬浊液转移到新的 1.5mL 离心管中, 加入 25 μL 3M 的乙酸钠 ($\text{pH}=5.2$), 加入 300 μL 异丙醇, 手摇混匀后离心 (15000rpm, 5min, 4°C)。 -20°C 静置 20min。

9: 弃上清 (直接倒掉即可), 加入 500 μL 70% 乙醇, 手摇混匀, 离心 (15000rpm, 5min, 4°C) 。

10: 弃上清 (直接倒掉即可), 离心 (12000rpm, 1min, 常温), 用枪头 (斜) 吸去多余液体, 开盖, 室温干燥 15min。

11: 加入 100 μL TE, 5 μL RNA 酶, 轻弹混匀, 小离心机轻微离心 (到 6000rpm 立即停止), 37°C 恒温箱静置 10min。

12: 测定浓度及电泳。