

纳米磁珠法粪便中 DNA 提取

以下试剂、器皿需操作者提前准备:

- ❖ 无水乙醇, 分析纯异丙醇 (IPA), RNaseA
- ❖ 1-1000ul 移液枪及枪头, 1.5 ml 离心管, 磁力分离架, 旋涡混合器, 高速离心机
- ❖ 如发现 SD11 试剂有些浑浊, 在 70 °C 水浴中加热几分钟溶解即可

1) Lysis Cell and Remove Humic Acid

取 10 毫克粪便到干净的 1.5ml 离心管, 加 100ul SD11, 充分混匀、研磨
加 600ul SD11, 加盖 70°C 1300 rpm 混合10min
加 100ul 刚混匀的 SD22 和 100ul 无水乙醇, 加盖混匀后室温, 5分钟
离心 13k rpm, 3分钟

2) Bind DNA to Nano Bead (NB)

取约 600 ul 上清液到新的 1.5ml 离心管中
加 360ul IPA, 20ul 刚混匀的 NB 磁珠 到上步的离心管, 加盖颠倒混匀10次, 室温 5 min, 期间间断混匀
把上步的离心管放到磁力架上 3min 后弃上清

3) Purify DNA

加 500 ul WB22 到上步的离心管, 混合10秒钟
放到磁力架上 2 min 后弃上清

重复上述 WB22 步骤后, 可短暂离心5秒后弃上清, 风干 2 min

4) Release DNA

加 100 ul EB 到上步的离心管, 加盖混匀, 室温 5min 后混匀 (可根据DNA含量加50-300ul EB)
放到磁力架上 5分钟

把上清液转到没有 DNase 的干净离心管里, 注意不要取到磁珠。

DNA吸光度及电泳检测, 每个胶孔加 5-10ul DNA溶液 跑 1%胶, 其余 DNA冷冻保存

5) PCR Amplification

将上面提取的 DNA 用纯净水或 EB 稀释到 ~1 ng/ul, 作为下面DNA 扩增的模板。

减少洗脱液的体积。

如果您有其他问题, 请联系善诺客服!