

粪便核酸提取试剂盒

产品货号：26995

产品规格：100T

产品简介：

粪便样本中的人脱落细胞以及肠道菌群经裂解后核酸释放，利用磁珠与核酸特异性高效结合，并利用磁性分离器或磁棒使磁珠吸附于管壁或磁棒套，通过洗涤、洗脱过程得到所需的核酸。

产品组成：

试剂名称	规格
裂解液	60mL
结合液	30mL
磁珠悬液	2mL
洗涤液 A	76mL 注：首次使用前请加入4mL的异丙醇
洗涤液 B	40mL 注：首次使用前请加入40mL的异丙醇
洗涤液 C	40mL 注：首次使用前请加入160mL的异丙醇
洗脱液	25mL
蛋白酶 K	20mg
溶液 A	2mL

【注】首次使用前：

在洗涤液A中加入指定量（见瓶身标签）的异丙醇，并于“□”内打上“√”，混匀后于室温下密闭保存。

在洗涤液B中加入指定量（见瓶身标签）的异丙醇，并于“□”内打上“√”，混匀后于室温下密闭保存。

在洗涤液C中加入指定量（见瓶身标签）的无水乙醇，并于“□”内打上“√”，混匀后于室温下密闭保存。

在蛋白酶K干粉中加入指定量（见管身标签）的溶液A，并于“□”内打上“√”，混匀后保存于-2-8℃保存，或分装后保存于-20℃。

操作步骤(以200mg粪便样本为例，1g样本加样要求参见)：

一、手动操作流程

1. 样本采集

移取180mg-220mg粪便样本到2mL离心管中。

2. 裂解

(1) 在上述2mL离心管中加入600μL的裂解液（使用前65℃水浴5-10min至溶液澄清），再加入20μL的蛋白酶K（检查是否已加入溶液A），调整合适的转速漩涡振荡1min，使其充分混合，再将离心管置于70℃加热20min，90℃加热10min，期间震荡混匀三次。

(2) 13000rpm离心3min，取300μL上清至一个新的1.5mL EP管中。若为1g粪便样本体系，取上清1.5mL至新的15mL EP管中。

3. 结合

在上述1.5mL离心管中加入300μL结合液，200μL异丙醇，20μL磁珠悬液，震荡混匀30 s，室温结合5min，期间颠倒



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

混匀两次，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。

注：此步骤磁性分离时间应不少于2min。

4. 洗涤

- (1) 加入800μL洗涤液A，震荡混匀30s，室温下静置1min，期间上下颠倒混匀一次，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。
- (2) 加入800μL洗涤液B（检查是否已加入异丙醇），震荡混匀30s，室温下静置1min，期间上下颠倒混匀一次，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。
- (3) 加入800μL洗涤液C（检查是否已加入无水乙醇），震荡混匀30s，室温下静置1min，期间上下颠倒混匀一次，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。
- (4) 重复步骤(3)一次（若为1g粪便样本体系，该步仅加入1mL洗涤液C，震动混匀后转移至1.5mL EP管中）。

注：步骤(4)应尽量除尽洗涤液。

5. 干燥

保持离心管于磁力架上，将其置于超净工作台中风干至磁珠表面无明显光泽(5-7min)。

6. 洗脱

加入50μL 65°C预热的洗脱液，震荡混匀30s，于65°C加热5min后，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，转移上清液至新的1.5mL离心管中，此即为纯化得到的基因组DNA，可保存于-20°C。

表 1.不同样本量对应使用的反应管规格和试剂加入

反应管/试剂 \ 样本体积	200mg	1g
反应管规格	2mL	15mL
蛋白酶K	20μL	100μL
粪便样本	200mg	1g
裂解液	600μL	3mL
结合液	300μL	1.5mL
异丙醇	200μL	1mL
磁珠悬液	20μL	40μL
洗涤液 A	800μL	4mL
洗涤液 B	800μL	4mL
洗涤液 C	800μL	4mL
洗脱液	50μL	100μL

二、自动化操作流程

1. 磁珠法自动化提取准备工作

- (1) 本试剂盒适合配备TIANLONG -NP968磁珠核酸提取仪进行粪便DNA提取工作。
- (2) 在96孔深孔板中第1列和第7列依次加入300μL结合液，200μL异丙醇，20μL磁珠悬液和300μL裂解后的样本上清液。
- (3) 在96孔深孔板中第2列和第8列加入800μL洗涤液A（检查是否已经加入异丙醇）。
- (4) 在96孔深孔板中第3列和第9列加入800μL洗涤液B（检查是否已经加入异丙醇）。
- (5) 在96孔深孔板中第4列和第10列加入800μL洗涤液C（检查是否已经加入无水乙醇）。
- (6) 在96孔深孔板中第5列和第11列加入800μL洗涤液C（检查是否已经加入无水乙醇）。
- (7) 在96孔深孔板中第6列和第12列加入70μL洗脱液。

注：TIANLONG -NP968磁珠核酸提取仪最低洗脱液不能低于60μL，因此将试剂盒中50μL洗脱液增加至70μL洗脱。

2. 自动化核酸提取仪参数设置示例



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

步骤	槽位	名称	等待时间 (min)	混合时间 (min)	磁吸时间 (sec)	混合速度	体积	温度状态	温度
1	1	结合	0	5	120	中	820	关闭	0
2	2	洗涤1	0	2	120	中	800	关闭	0
3	3	洗涤2	0	2	90	中	800	关闭	0
4	4	洗涤3	0	2	90	中	800	关闭	0
5	5	洗涤4	0	2	90	中	800	关闭	0
6	1	晾干	5	0	0	中	70	裂解加温	90
7	6	洗脱	0	5	180	中	70	洗脱加温	90
8	2	弃磁珠	0	1	0	中	800	关闭	0

注意事项:

1. 不同来源的固体和液态粪便样本。使用前请充分混合，防止样本不均一。
2. 提取效果与粪便样本质量有关。
3. 蛋白酶K干粉溶解后，可分装储存于-20°C，但应避免反复冻融。
4. 应避免对磁珠进行冷冻、离心等操作。
5. 磁珠取用前应充分重悬均匀。
6. 磁珠干燥前，应用移液器吸尽洗涤液。应避免磁珠过度干燥，否则会严重降低核酸洗脱效率。
7. 建议使用质量较好的离心管和移液器吸头，避免因粘附磁珠而造成损失。
8. 本产品使用后请按医疗垃圾进行处理。
9. 使用前请检查各组分是否存在析出情况，如有析出，请将试剂瓶置于60°C水浴加热溶解后使用。
10. 除非另有说明，我们公司生产的生化试剂通常是非无菌包装的。如果要用于细胞实验，请提前进行预处理。
11. 本产品仅供科学研究使用。不得用于医疗、临床诊断或治疗、食品和化妆品等。请勿在普通住宅区存放。
12. 为了您的安全和健康，请穿戴实验服、一次性手套和口罩进行操作。

保存:

2-8°C，有效期2年。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>