

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 30s，室温结合 5min，期间颠倒混匀两次，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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

注：此步骤磁性分离时间应不少于 2min。

4. 洗涤

- (1) 加入 800 μ L 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 800 μ L 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 800 μ L 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 50 μ L 65 $^{\circ}$ C 预热的洗脱液，震荡混匀 30s，于 65 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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	20 μ L	100 μ L
粪便样本	200mg	1g
裂解液	600 μ L	3mL
结合液	300 μ L	1.5mL
异丙醇	200 μ L	1mL
磁珠悬液	20 μ L	40 μ L
洗涤液 A	800 μ L	4mL
洗涤液 B	800 μ L	4mL
洗涤液 C	800 μ L	4mL
洗脱液	50 μ L	100 μ L

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 300 μ L 结合液，200 μ L 异丙醇，20 μ L 磁珠悬液和 300 μ L 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 800 μ L 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 800 μ L 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 800 μ L 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 800 μ L 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 70 μ L 洗脱液。

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

2. 自动化核酸提取仪参数设置示例



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.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

郑州乐业生物科技有限公司
 Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com