

## 粪便总 DNA 提取试剂盒 BeaverBeads™ Stool DNA Kit

### 产品简介

BeaverBeads™ Stool DNA Kit 适用于从粪便样品中快速、高效地提取人及肠道菌群基因组 DNA。提取过程采用超顺磁性微球，使用预制的缓冲液，可直接进行提取，且可根据加入的样本量来调整反应体系。本产品既可以手动进行少量样品的提取，也适合于用自动化工作站进行高通量操作。提取的产物可用于酶切、PCR 扩增、检测等后续实验。

### 产品信息

| 产品名称    | BeaverBeads™ Stool DNA Kit                 |
|---------|--|
| 裂解液 ①   | 2~8 °C 储存 (可保存于室温, 用前 65 °C 水浴加热 5~10min)。 |
| 结合液 ②   | 2~8 °C 储存 (可保存于室温)。                        |
| 磁珠悬液 ③  | 2~8 °C 储存 (避免冷冻)。                          |
| 洗涤液 A ④ | 2~8 °C 储存 (可保存于室温)。                        |
| 洗涤液 B ⑤ | 2~8 °C 储存 (可保存于室温)。首次使用前请加入指定量的异丙醇         |
| 洗涤液 C ⑥ | 2~8 °C 储存 (可保存于室温)。首次使用前请加入指定量的无水乙醇        |
| 洗脱液 ⑦   | 2~8 °C 储存 (可保存于室温)。                        |
| 蛋白酶 K ⑧ | 2~8 °C 储存 (-20°C 长期保存)。                    |
| 溶液 A ⑨  | 2~8 °C 储存 (可保存于室温)。                        |
| 异丙醇     | 分析纯, 需用户自备。                                |
| 无水乙醇    | 分析纯, 需用户自备。                                |
| 保质期     | 1 年  |

### 操作流程

#### 首次使用前:

- 在洗涤液 B ⑤ 中加入指定量 (见瓶身标签) 的异丙醇 (分析纯), 并于“□”内打上“√”, 混匀后密闭保存。
- 在洗涤液 C ⑥ 中加入指定量 (见瓶身标签) 的无水乙醇 (分析纯), 并于“□”内打上“√”, 混匀后密闭保存。
- 在蛋白酶 K ⑧ 中加入指定量 (见管身标签) 的溶液 A ⑨, 并于“□”内打上“√”, 混匀后保存于 2~8 °C, 或分装后保存于 -20 °C。

#### 准备物品:

- 1.5 mL 离心管: 2 个/样品
- 2 mL 离心管: 1 个/样品
- 单通道移液器: 20 μL、200 μL、1000 μL
- 漩涡振荡器
- 恒温金属浴 (或水浴锅)
- 磁性分离器: 可选用海狸磁性分离器, 货号: 60201

操作步骤 (以 200 mg 粪便样本为例, 1 g 样本请参见下表 1):

#### 一、手工法提取步骤

##### 1. 样本采集

用刀片切取 180 mg~220 mg 粪便样本到 2 mL 离心管中。

##### 2. 裂解

(1) 在上述 2 mL 离心管中加入 600 μL 的裂解液 ① (用前 65 °C 水浴加热 5~10min), 再加入 20 μL 的蛋白酶 K ⑧ (检查是否已加入溶液 A ⑨), 调整合适的转速漩涡震荡 1 min, 使其充分混合, 再将离心管置于 70 °C 加热 20 min, 90 °C 加热 10 min, 期间震荡混匀三次。

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

##### 3. 结合

在上述 1.5 mL 离心管中加入 300 μL 结合液 ②, 200 μL 异丙醇, 20 μL 磁珠悬液 ③, 涡旋震荡 30s, 室温结合 5 min, 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。

注: 此步骤磁性分离时间应不少于 2 min。

##### 4. 洗涤

(1) 向离心管中加入 800 μL 洗涤液 A ④, 涡旋震荡 30 s, 室温下静置 1 min, 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 μL 洗涤液 B ⑤ (检查是否已加入异丙醇), 涡旋震荡 30 s, 室温下静置 1 min, 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 μL 洗涤液 C ⑥ (检查是否已加入无水乙醇), 涡旋震荡 30 s, 室温下静置 1 min, 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 1 mL 洗涤液 C ⑥, 震动混匀后将磁珠悬液转移至 1.5 mL 离心管中)。

注: 步骤 (4) 应尽量除尽洗涤液。

##### 5. 干燥

保持离心管于磁性分离器上, 将其置于超净工作台中开盖风干至磁珠表面无明显光泽 (5~7 min)。

##### 6. 洗脱

加入 50 μL 65 °C 预热的洗脱液 ⑦, 涡旋震荡 30 s, 于 65 °C 加热 5 min 后, 将离心管置于磁性分离器上磁吸至溶液澄清, 转移上清液至新的 1.5 mL 离心管中, 此上清液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量

| 反应管/试剂  | 样本体积   |        |
|---------|--------|--------|
|         | 200 mg | 1g     |
| 反应管规格   | 2 mL   | 15 mL  |
| 蛋白酶 K ⑧ | 20 μL  | 100 μL |
| 粪便样本    | 200 mg | 1 g    |
| 裂解液 ①   | 600 μL | 3 mL   |
| 异丙醇     | 200 μL | 1 mL   |
| 磁珠悬液 ③  | 20 μL  | 40 μL  |
| 洗涤液 A ④ | 800 μL | 4 mL   |
| 洗涤液 B ⑤ | 800 μL | 4 mL   |

|         |             |             |
|---------|-------------|-------------|
| 洗涤液 C ⑥ | 800 $\mu$ L | 4 mL        |
| 洗涤液 C ⑥ | 800 $\mu$ L | 1 mL        |
| 洗脱液 ⑦   | 50 $\mu$ L  | 100 $\mu$ L |

## 二、自动化仪器（磁棒法）提取

### 1. 磁珠法自动化提取准备工作

- 1.1 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。
- 1.2 在 96 孔深孔板中第 1 列和第 7 列依次加入 300 $\mu$ L 结合液 ②、200  $\mu$ L 异丙醇、20  $\mu$ L 磁珠悬液 ③和 300  $\mu$ L 样本。
- 1.3 在 96 孔深孔板中第 2 列和第 8 列加入 800  $\mu$ L 洗涤液 A ④。
- 1.4 在 96 孔深孔板中第 3 列和第 9 列加入 800  $\mu$ L 洗涤液 B ⑤（检查是否已经加入异丙醇）。
- 1.5 在 96 孔深孔板中第 4 列和第 10 列加入 800  $\mu$ L 洗涤液 C ⑥（检查是否已经加入无水乙醇）。
- 1.6 在 96 孔深孔板中第 5 列和第 11 列加入 800  $\mu$ L 洗涤液 C ⑥（检查是否已经加入无水乙醇）。
- 1.7 在 96 孔深孔板中第 6 列和第 12 列加入 70  $\mu$ L 洗脱液 ⑦。

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

### 2. 自动化仪器提取步骤

| 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 ( $\mu$ L) | 温度状态 | 温度 ( $^{\circ}$ C) |
|----|----|------|------------|------------|------------|------|---------------|------|--------------------|
| 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. 操作之前，请务必认真阅读本产品手册。
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 $^{\circ}$ 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。

7. 应避免磁珠过度干燥，否则会严重降低核酸洗脱效率。
8. 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。

## 产品列表

| 货号        | 产品名称                       | 包装规格     |
|-----------|----------------------------|----------|
| 70411-20  | BeaverBeads™ Stool DNA Kit | 20 rxns  |
| 70411-100 |                            | 100 rxns |

### 有限使用商标许可

苏州海狸生物医学工程有限公司声明对其开发的或者与其他单位合作开发的所有内容和服务拥有或者与合作者共同拥有全部知识产权，受有关商标、专利、版权等知识产权法律的保护。本产品的购买者享有的权利仅限于对所购买数量的本产品进行内部研究使用，并且该权利不可转让，亦不可用于任何商业应用，购买者无权对该产品或其任何一部分进行重新销售。如出于商业用途的使用（包括但不限于代理销售），则必须经过苏州海狸生物医学工程有限公司的书面许可，并在使用时注明来源和知识产权、版权等系苏州海狸生物医学工程有限公司所有的标记。如需获得其它权限信息，请联系 [Beaver@beaverbio.com](mailto:Beaver@beaverbio.com)，或者苏州海狸生物医学工程有限公司地址：苏州工业园区星湖街 218 号生物纳米园 A6-101，邮编 215123。

本产品由苏州海狸生物医学工程有限公司生产。

### 版权声明：

©2013 苏州海狸生物医学工程有限公司保留所有权利。本《用户手册》所呈现的任何内容，无论商标、设计、文字、图像和任何其他信息，未经特殊说明，其著作权均属苏州海狸生物医学工程有限公司所有。对于违反国家有关法律法规，不尊重本声明，不经同意，擅自使用本《用户手册》内容并不注明出处的行为，本公司保留采取法律措施，追究其责任的权力。

需要支持，请访问：[www.beaverbio.com/support](http://www.beaverbio.com/support) 或电子邮件：[Service@beaverbio.com](mailto:Service@beaverbio.com)