

# SteadyPure 粪便 DNA 提取试剂盒

## SteadyPure Stool DNA Extraction Kit

Code No. AG21036

**包装量:** 50 rxns  
**保存温度:** Package 2-1 -20°C  
 Package 2-2 室温 (15-30°C)

### 产品概述

SteadyPure 粪便 DNA 提取试剂盒从小于 200 mg 的粪便样本中提取 DNA，本产品采用独特的吸附剂可有效去除粪便中的胆红素、胆酸盐及腐殖酸等抑制因子，同时使用高效的离心吸附柱，可纯化获得完整性好、纯度高、质量稳定的 DNA。本产品提取获得的 DNA 可直接用于 PCR、qPCR、NGS 测序分析等分子生物学实验。

### 安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

**【注意：实验过程中产生的废液需要收集在废液桶中专门处理。】**

如果缓冲液 Buffer LS-7、Buffer BS-5、Buffer WA 不小心溅出，请立刻用大量清水冲洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

### 产品组成<sup>\*1</sup>

Proteinase K ( 20 mg/ml )	750 μl
RNase A ( 10 mg/ml )	500 μl
Buffer RS-2	25 ml
Buffer LS-7	5 ml
Buffer PS	10 ml
Buffer BS-5 <sup>*2</sup>	15 ml
Buffer WA	25 ml
Buffer WB <sup>*3</sup>	27 ml
Elution Buffer	10 ml
Grinding Beads	50 pcs
Stool DNA Mini Columns	50 sets
Collection tubes	50 pcs

\*1 : Proteinase K (20 mg/ml) 和 RNase A (10 mg/ml) 包装于 Package 2-1 中，需放置于 -20°C 保存；其余组分均包装于 Package 2-2 中，室温 (15 ~ 30°C) 保存。

\*2 : Buffer BS-5 在首次使用前，请添加 35 ml 的异丙醇（Buffer BS-5 与异丙醇体积比为 3 : 7），混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

\*3 : Buffer WB 在首次使用前，请添加 63 ml 的无水乙醇（Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3 : 7），混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

## ➤ 实验前准备

1. 自备：无水乙醇、异丙醇、1.5 ml 离心管、水浴锅。
2. 储存温度较低时，组分 Buffer LS-7、Buffer BS-5 可能出现沉淀，请于 37°C 加热溶解直至沉淀消失，再混合均匀后使用。
3. 洗脱结合在 *Stool DNA* Mini Column 上的 DNA 时，将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50 ~ 65°C 使用，可能会提高 DNA 的洗脱效率。
4. Buffer BS-5 在首次使用前，请添加 35 ml 的异丙醇（Buffer BS-5 与异丙醇体积比为 3 : 7），混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。
5. Buffer WB 在首次使用前，请添加 63 ml 的无水乙醇（Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3 : 7），混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

## ➤ 保存及运输

保存温度：Package 2-1 -20°C 保存

Package 2-2 室温（15-30°C）保存

运输温度：Package 2-1 干冰运输或 -20°C 冰袋运输

Package 2-2 室温（15-30°C）运输

## ➤ 注意事项

1. 应尽量使用新鲜的实验材料，以确保样本中的 DNA 不被降解。
2. 样本处理过程中需确保样本充分混匀，否则可能影响 DNA 的收量及纯度。
3. 样本切勿超过最大起始量（200 mg），且需充分裂解，避免堵塞 *Stool DNA* Mini Columns，影响 DNA 收量及纯度。如果样本量较大，请适当增加试剂用量。
4. 本产品中 *Stool DNA* Mini Columns 的最大加样体积为 750 μl，使用时如果液体的体积超出最大加样体积，请使用多个 *Stool DNA* Mini Columns 进行纯化，或分次加入：上样 750 μl 混合液后，离心，弃滤液，然后将剩余混合液再次上样，重复此步骤。
5. 操作过程中，*Stool DNA* Mini Columns 的吸附柱需竖直从 Collection tubes 或 1.5 ml 的离心管中取出（或放入），避免吸附柱柱头触碰管壁，造成污染。
6. 提取的 DNA 需长期保存时，建议使用 Elution Buffer 洗脱 DNA。

## ➤ 操作流程

### 提取步骤

1. 称取小于 200 mg 的粪便样本至装有 Grinding Beads 的离心管中。  
**【注：如果是液态样本则转移 200 μl 至装有 Grinding Beads 的离心管中。】**
2. 向上述离心管中依次加入 500 μl Buffer RS-2、100 μl Buffer LS-7 和 15 μl Proteinase K（20mg/ml），高速涡旋振荡，使样本充分混匀，再于 70°C 水浴加热 15 min，水浴加热期间可颠倒或涡旋混匀 2~3 次。  
**【注：粪便样本需充分分散于溶液中，否则可能影响 DNA 的收量及纯度。】**
3. 12,000 rpm 室温离心 3 min，转移上清液至新的 1.5 ml 离心管中。
4. 向上述离心管中加入 10 μl RNase A（10mg/ml），涡旋混匀 30s，室温孵育 5 min。
5. 向上述混合液中加入 200 μl Buffer PS，涡旋混匀 30s，置于冰上静置 5 min。
6. 12,000 rpm 室温离心 5 min，准确量取上清液并转移至新的 1.5 ml 离心管中。  
**【注：下层沉淀中含有腐殖酸、胆酸盐等杂质，转移上清液时应避免取到下层沉淀，否则可能影响 DNA 的纯度。】**
7. 向上述离心管中加入与上清液等体积的 Buffer BS-5，使用移液器充分吸打混匀。  
**【注：请确认 Buffer BS-5 中已经加入了指定体积的异丙醇。】**



提取步骤

### 纯化步骤

1. 将上述溶液全量转移至 *Stool DNA* Mini Column 中，室温静置 1 min，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。



离心、弃滤液

2. 向上述 *Stool DNA* Mini Column 中加入 500  $\mu$ l 的 Buffer WA，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。
3. 向上述 *Stool DNA* Mini Column 中加入 750  $\mu$ l 的 Buffer WB，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。  
**【注：请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的无水乙醇。】**
4. 重复纯化步骤 3 一次。



Buffer WA 洗一次  
Buffer WB 洗两次

5. 将上述 *Stool DNA* Mini Column 安置于新的 2.0 ml Collection Tube 中，12,000 rpm 室温离心 2 min。
6. 将上述 *Stool DNA* Mini Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管中，在吸附膜的中央处加入 50  $\mu$ l ~ 100  $\mu$ l Elution Buffer 或灭菌水，室温静置 2 min，然后 12,000 rpm 室温离心 2 min 洗脱 DNA，获得的 DNA 可直接用于后续检测或置于  $-20^{\circ}\text{C}$  保存。

**【注①：将 Elution Buffer 或灭菌水加热至  $50 \sim 65^{\circ}\text{C}$  使用时有利于提高洗脱效率；如果想要获得更大收量的 DNA，可以将纯化步骤 6 中的洗脱液再次转移至 *Stool DNA* Mini Column 中进行二次洗脱。**

**②：Elution Buffer 或灭菌水的添加量可根据实际需求的 DNA 浓度调整，若需求较高浓度的 DNA，可适当降低 Elution Buffer 或灭菌水的添加量（例：30 ~ 50  $\mu$ l）。**



洗脱

