无背景微生物基因组提取试剂盒（无宿主DNA）

产品货号：26915

产品规格：50T/100T

产品简介：

本产品适用于从拭子和体液中纯化和富集细菌微生物组DNA的专用解决方案。在纯化过程中有效去除宿主DNA可最大限度地提高下一代测序分析中的细菌DNA覆盖率，并允许基于16SrDNA的高灵敏度微生物组分析和全宏基因组测序研究。

产品组成：

产品编号	50T	100T	保存条件
Buffer AHL	30ml	60ml	室温
Buffer RDD	12ml	24ml	室温
Buffer ATL	12ml	24ml	室温
Buffer APL2	12ml	24ml	室温
Buffer AW1	19ml	38ml	室温
Buffer AW2	17ml	24ml	室温
Proteinase K Solution（20mg/ml）	3.5ml	7ml	-20℃
Buffer AVE	10ml	20ml	室温
Benzonase	140 μl	280 μl	-20℃
Pathogen Lysis Tube	50个	100个	室温
2ml Collection Tube	50个	100个	室温
Nucleic Acid Spin Columns	50个	100个	室温

自备材料：

1. PBS或0.9% NaCl (用于液体样本稀释)
2. 无水乙醇（96%-100%）
3. 无酶1.5ml/2ml离心管
4. 无酶吸头
5. 涡旋仪
6. 高速离心机

开始前注意事项：

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意

1. 可提取样品类型为：肺泡灌洗液、拭子和其他体液等富含宿主DNA样本。
2. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的核酸片段较小且提取量下降。
3. 若Buffer ATL或Buffer APL2中有沉淀，可在56°C水浴中加热溶解后使用。
4. Buffer AW1和Buffer AW2中提前加入无水乙醇。

操作步骤：

1. 取1ml样品添加到2ml试管中，加入500μl Buffer AHL并在室温下旋转孵育30分钟。
   注意：也可以用600rpm左右速度震荡器孵育，定期查看是否混匀完合，若样本体积不够可使用PBS稀释至所需要体积。
2. 将管子在室温下以10,000×g离心10分钟，然后小心地取出上清液并丢弃或用于其它提取，保留沉淀为细菌样品使用。注意不要吸到下层颗粒，因为这会导致细菌的丢失。
   注意：上清液若需要可保留用于病毒等的提取，本试剂盒使用沉淀细菌进行核酸提取。

3. 向含有沉淀的离心管中添加190μl Buffer RDD和2.5μl Benzonase。充分混匀并在加热块或水浴中以600rpm的速度在37°C下孵育30分钟。
4. 加入20μl Proteinase K Solution，在加热块或水浴中以600rpm的速度在56°C下孵育30分钟。
5. 向管内加入200μl Buffer ATL，充分混匀后将全部液体加入Pathogen Lysis Tube中。
   注意：加入Buffer ATL后的充分混匀可确保完整细菌的有效转移。
6. 将将含溶液的Pathogen Lysis Tube固定在涡旋器上以最大速度涡旋10分钟。
   注意：在裂解过程中避免加热样品。
7. 以8000×g将Pathogen Lysis Tube离心1分钟以减少裂解后的泡沫量。小心混合并将上清液转移到新的离心管中。
   注意：若部分离心机不兼容Pathogen Lysis Tube，可将所有移入到尖底或圆底1.5ml离心管中后再离心。离心步骤后仔细混合将转移管底部可能完整的细菌（若底部有明显细菌沉淀可一并随液体吸出移入新离心管中）。不要将珠子从Pathogen Lysis Tube转移到后续反应中。
8. 向上述含溶液的离心管中加入40μl Proteinase K Solution，涡旋混合，然后在加热块或水浴中以600rpm的速度在56°C下孵育30分钟。
9. 加入200μl Buffer APL2，充分涡旋混合30秒。
10. 70°C孵育10分钟并短暂旋转试管将管壁液滴甩下。
11. 向裂解液中加入200μl无水乙醇，充分涡旋混合15-30秒。
12. 将1.5ml离心管短暂离心以除去盖子内的液滴，将步骤11中的裂解液转移到已安装收集管的核酸吸附柱中，不要弄湿边缘并盖上盖子。
    注意：若步骤11中总溶液体积超过700μl则分次上柱。
13. 以8000×g离心1min。弃滤液，将核酸吸附柱重新放回2ml收集管中。
    注意：如果离心后裂解液没有完全通过核酸柱，再次以更高的速度（最高20,000× g；14,000rpm）离心，直到吸附柱中变空。
14. 打开核酸吸附柱，加入600μl Buffer AW1，不要弄湿边缘，盖上盖子。
    注意：确保在使用前将无水乙醇添加到Buffer AW1中。
15. 以8000×g离心1min。弃滤液，将核酸吸附柱重新放回2ml收集管中。
16. 打开核酸吸附柱，加入600μl Buffer AW2，不要弄湿边缘，盖上盖子。
    注意：确保在使用前将无水乙醇添加到Buffer AW2中。
17. 以8000×g离心1min。弃滤液，将核酸吸附柱重新放回2ml收集管中。
18. 重复操作步骤17一次。
19. 最大转速 (~13,400×g)离心以除尽Buffer AW2以干燥吸附柱膜。将吸附柱套入新的1.5ml无酶离心管管中并置于室温放置5-10min彻底晾干乙醇。
20. 向吸附柱膜中间位置悬空滴加50μl Buffer AVE（或无酶水），室温静置2min后，最大转速 (~13,400×g)离心2min 收集核酸溶液。丢弃柱子，盖上离心管盖子置于-20°C保存。
    注意：洗脱体积不应小于30μl，体积过少影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。
    为了提高核酸的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中按步骤19要求离心，将核酸溶液收集到离心管中。

有效期：12个月。

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