

YALEPIC® 病原微生物 DNA/RNA 提取试剂盒

YALEPIC® Pathogenic Microbes DNA/RNA Isolation Kit

产品货号: YB25004

产品保存及运输条件:

常温运输, 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC® Pathogenic Microbes DNA/RNA Isolation Kit 适用于从适用于从血液、拭子、痰液、肺泡灌洗液及微生物培养物等生物样本中分离纯化病毒、细菌和真菌等病原微生物的 DNA 及 RNA。本试剂盒操作便捷, 采用独特的缓冲体系使裂解液中的微生物核酸高效特异地结合在硅胶质离心吸附柱上, 同时高效去除蛋白、细胞代谢物等杂质污染。提取的核酸可直接用于 RT-PCR、Real Time PCR、测序分析等各种分子生物学实验。

产品组分

序号	产品组分	YB25004 (50 T)
①	SSP Buffer	22 ml
②	YG Buffer	22 ml
③	Wash Buffer GA	24 ml
④	Wash Buffer GB	16 ml
⑤	Proteinase K	1.2 ml
⑥	Nuclease-free ddH ₂ O	5 ml
⑦	Pure Columns YM with Collection Tubes	50 T
⑧	Nuclease-free Centrifuge Tubes (1.5 ml) 赠	50 T
⑨	Lysis Tubes P	50 T

适用范围

- 血液样本：新鲜或冻存抗凝全血 ($\leq 400 \mu\text{l}$) ；
- 体液样本：0.2 ~ 3 ml 新鲜或冻存的肺泡灌洗液、脑脊液、胸腹水、痰液等 ($\leq 5 \times 10^6$ 个细胞) ；
- 拭子液样本：0.2 ~ 2 ml 鼻、咽、口腔等拭子液 ($\leq 5 \times 10^6$ 个细胞) ；
- 细菌 ($\leq 1 \times 10^9$ 个细胞)、真菌 ($\leq 1 \times 10^9$ 个细胞) 。

自备试剂及仪器

无水乙醇；异丙醇；80%；10 mM PBS (pH 7.4) ；Nuclease-free 离心管；Nuclease-free 移液器滤芯吸头；高速离心机；恒温水浴锅；涡旋振荡仪；恒温混匀仪等。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前请保持工作区域清洁，做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等。
2. 病原样本处理需在生物安全柜中进行，使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品，试剂使用完后立即盖好瓶盖，避免交叉污染的风险，设置对照品进行质控。
3. 为了保证微生物 DNA 及 RNA 的最佳回收效率，样品应保证新鲜。如需要储存或运输，最好在 2~8°C 条件下进行，不可冻融，冻融会损坏微生物细胞的完整性。
4. 首次使用前 **Wash Buffer GA**、**Wash Buffer GB**，应按试剂瓶标签加入无水乙醇。

实验流程

1. 样本处理：
 - 1) 血液、脑脊液等**非粘稠样本**，无需液化处理，直接取样进行实验。
 - 2) **粘稠体液、痰液等**，取 500 μl 或适量液化后的样本至 1.5ml 离心管（自备）中，12,000 rpm 离心 5 min，弃上清，使用 400 μl PBS（自备）重悬沉淀。（注：如果痰液粘稠，向痰样本中加入 4 倍体积 4% 氢氧化钠溶液，静置 30 min，待其充分液化）
 - 3) **肺泡灌洗液、胸腹水等**，可先进行离心，去除上清液后，取下层 500 μl 粘稠样本（细胞、菌体、少量痰液），参考痰液样本进行液化处理。
 - 4) **含保存液的拭子样本**，涡旋震荡 30 s，取 400 μl 进行实验。
 - 5) **干拭子样本**，将拭子棉签部分于 0.5 ml PBS (pH 7.4) （自备）中旋转 30 s，取出棉签时尽量将菌液挤出，减少损失。
 - 6) **微生物培养物样本**，离心富集菌体，弃尽培养液，用 400 μl PBS 重悬后进行实验。

2. 在 **Lysis Tubes P** 中依次加入 400 μ l 样本、20 μ l **Proteinase K** 和 400 μ l **SSP Buffer**，涡旋震荡 10s 充分混匀后，用恒温混匀仪 65°C，2,500 rpm 处理 10 min。
3. 向上述 **Lysis Tubes P** 中继续加 400 μ l **YG Buffer** 涡旋混匀 5 s 后，置于 65°C 2,500 rpm 处理 10 min。
4. 12,000 rpm 离心 1 min，将上清转移至新的 Nuclease-free 离心管（自备）中，加入 400 μ l 异丙醇（自备），涡旋混匀，瞬时离心收集溶液至管底。
5. 将上述溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱（**Pure Columns YM with Collection Tubes**）中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm 离心 1 min，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入 500 μ l **Wash Buffer GA**（使用前检查是否加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1 min，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。重复本步骤一次。
7. 向吸附柱中加入 500 μ l **Wash Buffer GB**（使用前检查是否加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1 min，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。重复本步骤一次。
8. 12,000 rpm 离心 2 min，弃去收集管中的废液。将吸附柱置于室温 5~10 min，彻底晾干。
9. 将吸附柱置于新的 **Nuclease-free Centrifuge Tubes (1.5 ml)** 中，向吸附柱的中间部位悬空加入 70 μ l **Nuclease-free ddH₂O**，室温放置 5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集的核酸可直接用于后续实验或置于 -20°C 保存。