

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:

GBA Buffer 低温运输, -20°C 保存。其他组分常温运输, 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、Northern blot、SNP 基因分型、STR 基因分型、体外翻译、cDNA 文库构建、药物基因组学研究等各种分子生物学实验。

产品组分

序号	产品组分	YB25004 (50 T)
①	LBB Buffer	25 ml
②	GBA Buffer	2 × 20 ml
③	Wash Buffer A	55 ml
④	Wash Buffer B	55 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% 无水乙醇；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. 使用前检查 **LBB Buffer** 是否出现沉淀，如有沉淀出现，请置于 56°C 水浴重新溶解。
5. 如需单独除去 RNA，可在步骤 6 加入 **Wash Buffer A** 后加入 4 μl 浓度为 100 mg/ml 的 DNase-Free 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001)，室温放置 10 min；如需单独除去 DNA，可选购无 RNase 的 **DNase I** (YALI#YX27002)，在步骤 6 完成后加 80 μl DNase I 预混液，20 ~ 30°C 孵育 15 min。

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离心管（自备）中，加入 1.5 倍体积的 **GBA Buffer**，置于恒温混匀仪 37°C，600 rpm，30 min，至样本液化后取适量样本至 1.5 ml 离心管（自备）中，12,000 rpm 离心 5 min，弃上清，用 400 μl PBS 重悬沉淀。
 - 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) 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。

可选步骤: 如需去除宿主 DNA 去除, 可选择合适的商业化试剂盒进行去除实验。

2. 在 **Lysis Tubes P** 中加入 400 μ l 样本、400 μ l **LBB Buffer** 涡旋振荡 10 min, 或用恒温混匀仪 (2,500 rpm) 处理 10 min。
3. 室温 12,000 rpm 离心 1 min, 取上清液加入新离心管中, 加 20 μ l **Proteinase K** (注: 如已去除宿主 DNA, 无需进行此步骤) 涡旋混匀 5 ~ 8 s 后, 置于 65°C 孵育 10 min。
4. 加入 300 μ l 异丙醇, 涡旋混匀, 瞬时离心使溶液收集至管底。
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 A**, 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。

注:

- 1) 如需单独除去 RNA, 可在加入 Wash Buffer A 后加入 40 μ l 浓度为 10 mg/ml 的 RNase A 溶液, 室温放置 10 min, 再向吸附柱中加入 500 μ l Wash Buffer A 进行后续实验。
 - 2) 如需单独除去 DNA, 在步骤 6 完成后, 加 80 μ l DNase I 预混液 (请参照 YALI#YX27002 说明书配制), 20 ~ 30°C 孵育 15 min, 再向吸附柱中加入 500 μ l Wash Buffer A 进行后续实验。
7. 向吸附柱中加入 500 μ l **Wash Buffer B**, 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。 (注: 如需进一步提高纯度, 可重复该步骤一次)
 8. 向吸附柱中加入 500 μ l 80% 无水乙醇 (自备), 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。
 9. 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 min, 彻底晾干。
 10. 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。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断