

YALEPIC[®] NT 型粪便/土壤基因组 DNA 提取试剂盒 (含 RNase A)

YALEPIC[®] Stool And Soil Genomic DNA Isolation Kit (RNase A)-NT

产品货号: YC22008-A; (试) YC22008-A (5T)

产品保存及运输条件:

常温运输; **RSL Buffer 2 ~ 8°C 保存**, 其他组分 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] Stool And Soil Genomic DNA Isolation Kit (RNase A)-NT 适用于从土壤或粪便样本中提取总 DNA (包括样本中的细胞、细菌、寄生虫以及病毒的总 DNA)。本试剂盒采用优化的裂解液及独特的缓冲体系使 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上, 提取过程中无需使用苯酚/氯仿等有毒溶剂, 1 h 内即可获得至多 20 µg 高纯度的 DNA。可最大限度的去除胆红素、胆盐、腐殖酸、RNA、杂蛋白、脂类及其他抑制性杂质, 提取的 DNA 可用于二代测序 (16 S 扩增子和宏基因组)、PCR、Real-Time PCR、文库构建、印迹杂交等多种下游实验。

产品组分

序号	产品组分	YC22008-A	(试) YC22008-A
①	YQL Buffer	45 ml	5 ml
②	RSL Buffer	11 ml	1.5 ml
③	YBL Buffer	11 ml	1.5 ml
④	Wash Buffer GA	13 ml	4 ml
⑤	Wash Buffer GB	21 ml	7 ml
⑥	SEB Buffer	12 ml	1.5 ml
⑦	RNase A (100 mg/mL)	230 µl	24 µl
⑧	Pure Columns YM with Collection Tubes	50 T	5 T
⑨	Lysis Tubes M	50 T	5 T

适用范围

1. 适用于不同来源的固态或液态粪便;
2. 适用于花坛土、花盆土、农田土、山林土、淤泥、红黑土、粉尘等多类土壤环境样本。

自备试剂及仪器

无水乙醇; 异丙醇; Nuclease-free 移液器吸头; Nuclease-free 离心管; 高速离心机; 组织研磨仪; 恒温混匀仪; 涡旋振荡仪等。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施, 穿戴实验服、手套、口罩等。
2. 首次使用 **Wash Buffer GA**、**Wash Buffer GB** 前, 应按照试剂瓶标签指示加入无水乙醇。试用装 (5T) 中 **Wash Buffer GA**、**Wash Buffer GB** 已含无水乙醇, 使用后请立即盖好瓶盖防止乙醇挥发。
3. **RSL Buffer** 使用后需放于 2 ~ 8°C 冰箱保存。

实验流程

● 样本处理

1. 瞬时离心 **Lysis Tubes M**, 使珠子沉淀于管底。
2. **固态样本处理**: 向管中加入 0.1 ~ 0.3 g 土壤或粪便样本, 加入 750 μ l **YQL Buffer** 及 4 μ l **RNase A**, 旋紧管盖后短暂涡旋振荡, 充分混匀。
固液混合样本处理: 若为粪便/土壤保存液进行保存的样本, 需向 **Lysis Tubes** 中加入 400 μ l 固液混合物, 13,000 rpm 离心 1 min, 弃去保存液 (若离心后的固体量过少, 可再次富集, 总量 \leq 0.3 g)。加入 620 μ l **YQL Buffer** 和 4 μ l **RNase A**, 旋紧管盖后短暂涡旋振荡, 充分混匀。
3. 将 **Lysis Tubes M** 固定在装有 2 ml 适配器的组织研磨装置中, 并根据您的设备使用优化的研磨条件进行处理。
4. 将 **Lysis Tubes M** 在恒温混匀仪 1,200 rpm, 70°C 振荡 10 min。13,000 rpm 离心 2 min, 沉淀固体颗粒, 吸取 540 μ l 上清液至新的 2 ml 离心管 (自备) 中。

● DNA 提取

1. 加入 180 μ l **RSL Buffer**, 涡旋振荡 5 s, 13,000 rpm 离心 2 min。
2. 在新的离心管中依次加入 160 μ l **YBL Buffer**、480 μ l 上清液、320 μ l 异丙醇 (自备), 涡旋振荡 5 s。
3. 吸取 650 μ l 上述溶液至已装入收集管的吸附柱 (**Pure Columns YM with Collection Tubes**) 中, 12,000 rpm 离心 1 min。
4. 弃去收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。重复步骤 3 直至溶液转移完。

5. 向吸附柱中加入 500 μl **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 μl **Wash Buffer GB** (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃去管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。重复该步骤一次。
7. 12,000 rpm 离心 2 min, 弃去收集管中的废液。将吸附柱开盖置于室温 5 min, 彻底晾干。(注: 除去残余乙醇, 避免影响下游实验)
8. 将吸附柱置于新的 Nuclease-free 离心管中, 向吸附柱的中间部位悬空滴加 50 ~ 200 μl **SEB Buffer**, 室温放置 5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集 DNA 溶液, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。
注:
 - 1) 若下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感, 可以用无菌 ddH₂O 洗脱。
 - 2) 若要提高 DNA 浓度, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 重复步骤 8;
 - 3) 若要增加产量, 可用新的 50 ~ 100 μl SEB Buffer 或无菌 ddH₂O 进行洗脱;
 - 4) SEB Buffer 或 ddH₂O 可在 56 $^{\circ}\text{C}$ 提前预热, 滴加至膜中后, 室温静置 2 ~ 5 min 再进行离心。

研磨样本方案 (可选)

1. 在涡旋振荡仪上以最大速度手动涡旋振荡 10 min。
2. 在搭配 2 ml 水平离心管支架的涡旋振荡仪上以最大速度振荡 10 min, 若样本数量超过 12 个, 延长 10 min。
3. 使用 Qiagen 的 TissueLyser II 时, 以 25 Hz 研磨 8 ~ 10 min。
4. 使用 Qiagen 的 PowerLyzer 24 Homogenizer 时, 以 2000 rpm 的速度均质化 30 s, 暂停 30 s, 然后以 2000 rpm 的速度再次均质化 30 s。
5. 使用 MP Biomedicals 的 FastPrep- 24 时, 推荐速度为 6.0, 时间为 40 s。