



版本号：05/2024

Pathogenic Microbiome DNA/RNA Kit

病原微生物DNA/RNA提取试剂盒

Cat. No. CW3030S (50 preps)

保存条件：室温 (15~30°C)

产品简介

本试剂盒是进行微生物组分析的专用样品制备解决方案，适用于从拭子、血液、痰液、肺泡灌洗液等混合样本中纯化和富集细菌、真菌等病原微生物DNA/RNA。用本试剂盒纯化的微生物DNA/RNA适用于多种下游应用，包括全基因组测序分析、基于16S rDNA的高灵敏度微生物组分析、以及宏基因组鸟枪法测序分析。

产品内容

Component	CW3030S 50 preps
Buffer SL-A	20 mL
Buffer GL	20 mL
Buffer GW1 (concentrate)	25 mL
Buffer GW2 (concentrate)	20 mL
RNase-Free Water	3.5 mL
Proteinase K	1 mL
Lysis Tubes (50)	1
Spin Columns DM with Collection Tubes	50

自备试剂及耗材

1. 带有气溶胶屏障的无菌移液器吸头, 可防止交叉污染
2. 微量离心管 (2 mL/1.5 mL)
3. PBS缓冲液 (仅某些样品需要)
4. 异丙醇

实验前准备及重要注意事项

1. 本试剂盒旨在从完整的微生物细胞中分离DNA/RNA, 为了保证微生物DNA/RNA的最佳回收效率, 样品应保证新鲜。
2. 为避免由于污染造成的错误结果, 请保持工作区域清洁和穿防护服, 并合理设置对照品进行质控。采用适当措施处理样品材料, 降低交叉污染的风险。
3. Buffer GW1 (concentrate) 和Buffer GW2 (concentrate) 根据瓶身信息加入相应量的乙醇。

操作步骤

1. 样本前处理:

1a: 尿液、胸腹水、脑脊液等非粘稠体液样本

直接取400 μ L样本, 进行第2步操作。

1b: 拭子类样本 (如鼻、咽及肛拭子等)

涡旋振荡混匀后, 直接取400 μ L进行第2步实验。

1c: 痰液、肺泡灌洗液样本

取适量液化痰液样本至1.5 mL 离心管中 (液化方法推荐使用1.5倍体积的Buffer

GB1, 本试剂盒不提供), 12,000 rpm离心5 min, 弃上清, 使用400 μ L PBS重悬沉淀后提取。对于含有少量粘稠痰液的肺泡灌洗液, 将尽量多的肺泡灌洗液样本先进行离心, 小心去除上清, 取下层粘稠部分 (含痰液、细胞、菌体) 参照痰液样本进行液化处理。

1d: 血液类样本

血清、血浆及少量全血样本 (少于200 μ L) 可直接取400 μ L (少量全血使用PBS补足) 进行第2步实验, 大体积全血样本推荐使用红细胞裂解液 (CW0613) 处理后再进行提取。

2. 向 Lysis Tube 中加入400 μL 样本、20 μL Proteinase K和400 μL Buffer SL-A, 于恒温混匀仪上以65 $^{\circ}\text{C}$ 最大转速 (2500~2900 rpm) 处理10 min。短暂离心后加入400 μL Buffer GL, 继续65 $^{\circ}\text{C}$ 最大转速 (2500~2900 rpm) 震荡处理10 min。
3. 室温12000 rpm离心1min, 小心吸取全部上清至新离心管中, 并加入400 μL 异丙醇, 涡旋混匀, 瞬时离心使溶液收集至管底。
4. 将步骤3所得溶液 (包括形成的沉淀) 全部加入到已装入收集管的吸附柱, 若一次不能加完溶液, 可分多次转入 (每次不超过700 μL)。12,000 rpm离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
5. 向吸附柱中加入500 μL Buffer GW1 (使用前检查是否已加无水乙醇), 12,000 rpm 离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。重复此步骤一次。
6. 向吸附柱中加入500 μL Buffer GW2 (使用前检查是否已加无水乙醇), 12,000 rpm 离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。重复此步骤一次。
7. 12,000 rpm离心2分钟, 倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟, 彻底晾干 (5~10min)。
8. 将吸附柱置于一个新离心管 (自备) 中, 向吸附柱中间部位悬空加入70 μL RNase-Free Water, 室温放置5分钟, 12,000 rpm离心1分钟, 收集核酸溶液, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。