

操作手册

通用微生物 DNA 提取试剂盒

Catalog No. TD430-50 (50 次反应)

Highlights

- 可从粪便，土壤，水样，生物膜，拭子，唾液，生物体液中快速提取到高纯度的基因组 DNA。
- 该产品创新的裂解体系可以完美裂解格兰仕阳性菌，阴性菌，真菌，病毒。
- 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、高通量测序等分子生物学实验。

Ver.1.0.5

产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次
裂解管	室温	20 个
微生物 DNA 裂解液	室温	25 ml
微生物 DNA 结合液	室温	15 ml
微生物 DNA 洗涤液 1	室温	10 ml
微生物 DNA 洗涤液 2	室温	10 ml
DNase/RNase Free Water	室温	10 ml
过滤柱（桔色盖）	室温	50 个
3 号柱	室温	50 个
收集管（2ml）	室温	200 个
抑制物去除柱	室温	50 个

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

特性:

- **样品:** 可有效的从 200mg 以内的哺乳动物粪便, 250mg 以内土壤和 50-100mg 的真菌, 细菌细胞, 生物膜和水样中有效的提取到细菌, 真菌, 病毒, 线粒体和宿主 DNA
- **DNA 纯度:** 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好, 可以直接用 PCR, 高通量测序等各种分子生物学实验。
- **基因组 DNA 大小:** 一般经过震荡后, 可回收得到 15-20 kb 大小左右的基因组 DNA。
- **基因组 DNA 回收情况:** 可从 100 μ l (最少 50 μ l) 去 DNase/RNase 水可回收得到 25 μ g 左右的基因组 DNA。
- **操作温度:** 室温 (15-30 $^{\circ}$ C)。

操作步骤:

可选步骤: 添加 β 巯基乙醇到微生物 DNA 结合液中, 终浓度为 0.5% 例如: 500ul 到 100ml 的结合液中。

1. 直接添加样品到裂解管中, 然后添加 750ul 的微生物 DNA 裂解液到裂解管中, 在涡旋仪上最大速下振荡 5 分钟混匀。(如果使用高频振荡器时间可以适当缩短)

样品类型	最大输入量
粪便	200mg
土壤	250mg
液体样品	250ul
细胞	50-100 mg (2×10^9 细菌, 2×10^8 酵母细胞, 2×10^7 哺乳动物细胞动物细胞)

2. 将裂解管在 $\geq 10,000 \times g$ 下离心 1 分钟。
3. 首先把过滤柱 (桔色盖) 的下端拧断并套在一个收集管中。然后将上一步所得上清 (约 400 μ l) 加到过滤柱中, 在 $8,000 \times g$ 的离心力下离心 1 分钟。丢弃过滤柱。
4. 添加 1200 μ l 的微生物 DNA 结合液到上一步的收集管中充分混匀。
5. 将 3 号柱套在一个新的收集管里。
6. 从步骤 4 中吸取 800 μ l 混合液加到 3 号柱中, 在 $10,000 \times g$ 下离心 1 分钟, 倒掉收集管中废液。
7. 重复步骤 6。
8. 添加 400 μ l 的微生物 DNA 洗涤液 1 到 3 号柱中, 3 号柱套在一个新的收集管中, 在 $10,000 \times g$ 下离心 1 分钟。倒掉收集管中废液。
9. 添加 700 μ l 的微生物 DNA 洗涤液 2 到 3 号柱中, 在 $10,000 \times g$ 下离心 1 分钟。倒掉收集管中废液。
10. 添加 200 μ l 的微生物 DNA 洗涤液 2 到 3 号柱中, 在 $10,000 \times g$ 下离心 1 分钟。

可选步骤: 将收集管中的废液倒掉, 并将 3 号柱 (带盖) 套回收集管中, 在 $10,000 \times g$ 下额外离心 2 分钟, 尽量除去洗涤液, 以免洗涤液中残留乙醇抑制下游反应。

11. 将 3 号柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加 100 μ l 的基因组 DNA 洗脱液到柱基质上（洗脱液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热效果更好），室温下放置 2-5 分钟，在 10,000 x g 离心 1 分钟来洗脱基因组 DNA。
12. 将抑制物去除柱下端拧断并套在一个收集管内，去掉绿色的盖子，在 8,000 x g 下离心 3 分钟去除液体。如果抑制物去除柱变干，则需要添加 400 μ l 的 DNase/RNase Free Water 到抑制物去除柱内再离心。
13. 将第 11 步洗脱的基因组 DNA 放入抑制物去除柱内，并套在一个干净的 1.5ml 离心管中，在 8,000 x g 下离心 1 分钟，得到的 DNA 可进行 PCR，高通量测序等试验。