

HostZERO®去宿主微生物 DNA 提取试剂盒

使用说明书 (Ver.1.3.2)

产品特点

- ✧ 可去除≥90%的宿主 DNA。
- ✧ 获得的微生物 DNA 产量高、纯度好，可以直接用于 PCR、测序等分子生物学实验。
- ✧ 无偏倚裂解细胞针对微生物的下游分析。
- ✧ 此产品仅供科研使用。

产品货号：

TD431-50 (50 次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

目录 Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
操作步骤	2
组件查询	3

产品组份

试剂盒组成	50 次	保存
宿主 DNA 去除液	3*20ml	-20°C
微生物选择缓冲液	5ml	-20°C
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml)	1ml	-20°C
微生物选择酶	50µl	-20°C
裂解管 (0.1&0.5mm)	50 个	室温
DNA/RNA 保护剂 (2X)	10ml	室温
微生物裂解液	50ml	室温
基因组 DNA 裂解液	100ml	室温
基因组 DNA 洗涤液 1	30ml	室温
基因组 DNA 洗涤液 2	2*50ml	室温
基因组 DNA 洗脱液	10ml	室温
1 号 C 纯化柱	50 个	室温
2ml 收集管	200 个	室温

注意事项

1. 售出后一年内产品可质保。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。
2. 环境温度低时基因组 DNA 裂解液或者基因组 DNA 洗涤液 1 可能出现析出和沉淀,可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解, **恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。

产品特性

- ✧ 样品输入量:一般是针对 200µl 样品。更多样品类型及输入量参看附录。
- ✧ 样本类型:唾液,拭子及其含有完整细菌细胞的真核宿主体液都可使用本试剂盒进行提取。如果是全血或者固体样品的化需要进行预处理。如果样品经过多次反复冻融,有可能会影响到细菌细胞的完整性,导致细菌 DNA 的丢失,不兼容保存在样本保存液中的样品。
- ✧ 基因组 DNA 质量:回收到的基因组 DNA 可进行各种下游试验包括 PCR 及二代测序。
- ✧ 基因组 DNA 回收情况:可回收超过 85%的细菌基因组 DNA,并且去除超过 90%的真核宿主 DNA。
- ✧ 操作温度:室温(15-30°C)。
- ✧ 设备:台式离心机,涡旋振荡仪,高频破碎仪(推荐)

操作步骤

本操作步骤分 2 部分：

第一部分（去除宿主 DNA）

1. 在一个干净的离心管里，添加 1ml 宿主 DNA 去除液到 200 μ l 的样本中。
2. 将离心管在室温下（20-30 $^{\circ}$ C）上下颠倒混匀 15 分钟。
3. 将离心管在 $\geq 10,000$ xg 下离心 5 分钟。
4. 小心去除上清液，但不要搅动或者碰触到沉淀部分。
5. 添加 100 μ l 的微生物选择缓冲液到离心管内重悬上一步的沉淀。
6. 添加 1 μ l 的微生物选择酶到上一步的重悬液中，涡旋振荡混匀。
7. 在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 30 分钟。
8. （推荐步骤）添加 20 μ l 蛋白酶 K 溶液到样品中并且涡旋至少 10 秒。在 55 $^{\circ}$ C 下孵育 10 分钟。
9. 添加 100 μ l 的 DNA/RNA 保护剂 (2X) 到上一步的溶液中。涡旋震荡 10 秒然后在室温（20-30 $^{\circ}$ C）下放置 5 分钟

第二部分（微生物 DNA 提取）

1. 将上一步全部液体~200 μ l 全部添加到裂解管中，然后添加 750 μ l 的微生物裂解液，裂解管拧紧盖子并放在涡旋仪上最大速下振荡 5 分钟以上混匀。（如果使用高频破碎仪时间可以适当缩短）
2. 将裂解管放到台式离心机里，在 $\geq 10,000$ xg 下离心 1 分钟。
3. 将上一步所得上清 400 μ l 转移到一个干净的收集管中，添加 1200 μ l 的基因组 DNA 裂解液到收集管中充分混匀。
4. 将 1 号 C 纯化柱套在一个新的收集管里。
5. 将步骤 3 的混合液加到纯化柱中，在 10,000xg 下离心 1 分钟，倒掉收集管中废液。（柱的最大容积是 800 μ l，需要反复离心直到全部通过纯化柱为止）。
6. 纯化柱套在一个新的收集管内，添加 400 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 1 到纯化柱中，在 $\geq 10,000$ xg 下离心 1 分钟。
7. 添加 700 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到纯化柱中，在 $\geq 10,000$ xg 下离心 1 分钟。
8. 添加 200 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到纯化柱中，在 $\geq 10,000$ xg 下离心 1 分钟。
9. 将纯化柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加 ≥ 20 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 $\geq 10,000$ xg 下离心 1 分钟来洗脱基因组 DNA。

附录 A：用拭子采集的样本

把拭子直接放到一个干净的离心管里，添加 1ml 的宿主去除液，如果拭子上带有液体的化，则转移 200 μ l 液体样本和拭子一起放到管子里。使用无菌的方法把拭子头部切断，高度要能适配到管子内。然后再进行第一部宿主去除部分的第 2 步和第 3 步。离心后小心将拭子头从管子里拿出然后进行第 4 步。

附录 B：其他样本类型

大体积的液体样本

1. 针对 $>200\mu\text{l}$ 的样品，添加 5 倍体积的宿主去除液到样本中。（例如 5ml 宿主去除液到 1ml 样本中）
2. 将离心管在室温下（20-30°C）上下颠倒混匀 15 分钟。
3. 将离心管在 $\geq 7,000\text{xg}$ 下离心 10 分钟，直到细胞沉淀下来。
4. 从第一步宿主去除部分的第 4 步开始操作。

血液样本（最多 10ml）

1. 添加 3 体积的 RBC 裂解液（单独销售）到 1 体积血液样本中。（例如 9ml 溶液到 3ml 的血液样本中）
2. 将离心管在室温下（20-30°C）上下颠倒混匀 5 分钟。
3. 将离心管在 $2,000\text{xg}$ 下离心 10 分钟，直到细胞沉淀下来。
4. 将离心管在 $8,000\text{-}10,000\text{xg}$ 下离心 10 分钟。
5. 小心去除上清液，但不要搅动或者碰触到沉淀部分。
6. 用 $200\mu\text{l}$ PBS 重悬细胞沉淀，然后从第一步宿主去除部分的第一步开始操作

组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
宿主 DNA 去除液	TD4310-1-20	20ml	-20°C
微生物选择缓冲液	TD4310-2-5	5ml	-20°C
蛋白酶 K 溶液（20mg/ml）	TD3001-2-1	1ml	-20°C
微生物选择酶	TD4310-3	50 μl	-20°C
裂解管（0.1&0.5mm）	TS6012-50	50 个	室温
DNA/RNA 保护剂（2X）	TR120-10	10ml	室温
微生物裂解液	TD4300-1-50	50ml	室温
基因组 DNA 裂解液	TD3004-1-100	100ml	室温
基因组 DNA 洗涤液 1	TD3004-5-30	30ml	室温
基因组 DNA 洗涤液 2	TD3004-2-50	50ml	室温
基因组 DNA 洗脱液	TD3004-3-10	10ml	室温
1 号 C 纯化柱	TC1004-50	50 个	室温
2ml 收集管	TC1001-200	200 个	室温