

HostZERO[®]去宿主微生物 DNA 提取试剂盒（磁珠法）

使用说明书（Ver.1.1.3）

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：

TB431-48（48 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	48 次	保存
宿主 DNA 去除液	50ml	-20°C
微生物选择缓冲液	5ml	-20°C
蛋白酶 K	20mg	-20°C
蛋白酶 K 保存液	1.2ml	-20°C
微生物选择酶	50µl	-20°C
绿盖裂解管(0.1&0.5mm)	50 个	室温
2ml 收集管	50 个	室温
DNA/RNA 保护剂 (2X)	20ml	室温
磁珠 DNA 结合液	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
磁珠	1.5ml	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. 环境温度低时磁珠 DNA 结合液或者基因组 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 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。
- ❖ **蛋白酶 K 干粉** 使用前，用全部蛋白酶 K 缓冲液 1.0ml 进行溶解，涡旋混匀。
- ❖ **设备:** 台式离心机，涡旋振荡仪，高频破碎仪 (**推荐**)，恒温金属浴。

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。

第二部分（微生物 DNA 提取）

1. 添加 100 μ l DNA/RNA 保护剂到上一步的样本溶液中，吸打混匀，然后将全部样本溶液转移到裂解管中，涡旋震荡 10 秒，然后在室温（20-30 $^{\circ}$ C）下放置 5 分钟。（使用高频破碎仪时间可以适当缩短，推荐使用简石生物“8”字或垂直震荡破碎仪。）
2. 掰断裂解管底端接头，将裂解管放入收集管中，离心，在 $\geq 10,000$ xg 下离心 5 分钟。
3. 将上一步所得上清约 200 μ l 转移到一个干净的 2ml 离心管中，添加 3 倍体积，600 μ l 的磁珠 DNA 结合液到离心管中充分混匀。
4. 振荡混匀的磁珠取 20 μ l 添加到上述离心管中，放在振荡器上或台式混样器上 振荡混匀 15 分钟。
5. 将离心管放到磁力架上，待磁珠完全吸附，上下颠倒冲洗贴壁残留磁珠，弃废液。
6. 将离心管从磁力架上取下来，管中加入 500 μ l 基因组 DNA 洗涤液 1，充分混悬磁珠 1min。
7. 将离心管放到磁力架上，待磁珠完全吸附，上下颠倒冲洗贴壁残留磁珠，弃废液。
8. 将离心管从磁力架上取下来，管中加入 900 μ l 基因组 DNA 洗涤液 2，充分混悬磁珠 1min。
9. 将离心管放到磁力架上，待磁珠完全吸附，上下颠倒冲洗贴壁残留磁珠，弃废液。
10. 重复 8、9 步骤，室温晾干残留无水乙醇及易挥发试剂 ~5min（避免过度干燥影响磁珠的洗脱效率）。
11. 添加 30-50 μ l 的基因组 DNA 洗脱液到离心管中并且重悬磁珠，混匀磁珠 5 分钟，然后将离心管移到一个磁力架上，待磁珠完全吸附，转移洗脱液到干净的离心管中低温保存备用。

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 μ 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 $\geq 7,000xg$ 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 xg 下离心 10 分钟，直到细胞沉淀下来。
4. 将离心管在 8,000-10,000 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 μ 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	TD4310-1-50	50ml	-20°C
微生物选择缓冲液	TD4310-2-5	5ml	-20°C
蛋白酶 K	TD3001-2-B	20mg	-20°C
蛋白酶 K 保存液	TD3001-2-D	1.2ml	-20°C
微生物选择酶	TD4310-3	50 μ l	-20°C
绿盖裂解管(0.1&0.5mm)	TC1077-50	50 个	室温
收集管 2ml	TC1001-50	50 个	室温
DNA/RNA 保护剂 (2X)	TR120-10	10ml	室温
磁珠 DNA 结合液	TD4077-1-100	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
磁珠	D4100-2-1.5	1.5ml	室温