

离心柱法血流感染病原体 DNA 提取试剂盒

【产品介绍】

本试剂盒配合独特的血液裂解液分离、富集血流感染病原体，之后经物理和化学双重处理裂解释放病原体 DNA，再经硅胶膜特异吸附，所得核酸纯度高。适合于从 1-5 mL 疑似血流感染阳性血液中分离、纯化病原体 DNA，血培前后样本皆可处理。所得病原体 DNA 可用于 PCR、文库构建等下游实验。

【特点】

- 裂解能力强，有效去除蛋白质、盐类、脂类等杂质，所得纯化产物纯度高。
- 特异的血液裂解液，可以分离、富集 10 CFU 的病原体，纯化得到血液基因组背景低的病原体核酸。

【试剂盒组成】

组分	目录号：CP-008-0（50 次）	目录号：CP-008-1（50 次）
血液裂解液 BCL-A	150 mL	150 mL
血液裂解液 BCL-B	60 mL	60 mL
裂解液 CBL	6 mL	6 mL
酸洗玻璃珠	6 g	6 g
结合液 CBB	12 mL	12 mL
去蛋白液 CCB	9 mL	9 mL
洗涤液 CWB	12 mL	12 mL
洗脱液 EB	6 mL	6 mL
蛋白酶 K（20 mg/mL）	550 μ L	550 μ L
RNase A（10 mg/mL）	/	550 μ L
离心柱（含收集管）	50 个	50 个

【保存条件】

蛋白酶 K 和 RNase A 保存于 -20 $^{\circ}$ C，试剂盒其它成分置于常温干燥处保存。

【操作步骤】

使用前添加 21 mL 无水乙醇到去蛋白液 CCB；添加 48 mL 无水乙醇到洗涤液 CWB，并做好标记。

所有离心均在室温下进行。

1. 在 1-5 mL 样品中加入等体积的血液裂解液 BCL-A，振荡混匀 1 min，室温静置 2 min，15,000 \times g 离心 2 min，用枪头小心吸弃上清至剩余 200 μ L，避免碰到管底沉淀。
2. 加入 1 mL 血液裂解液 BCL-B，振荡混匀 1 min，室温静置 2 min，15,000 \times g 离心 2 min，用枪头小心吸弃上清至剩余 100 μ L，之后用枪头吹吸重悬沉淀。

3. 加入 100 μL 裂解液 CBL, 50-100 mg 酸洗玻璃珠, 振荡混匀 5 min (如需去除 RNA, 加入 10 μL RNase A, 混匀后室温孵育 2 min)。
4. 加入 10 μL 蛋白酶 K, 65 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min, 期间混匀数次加速裂解。
5. 短暂离心, 将除酸洗玻璃珠外的溶液全部转移到一干净的 1.5 mL 离心管中。
6. 加入 200 μL 结合液 CBB 以及 200 μL 无水乙醇, 涡旋 15 s 充分混匀。
7. 短暂离心, 将所有溶液加入离心柱中, 12,000 \times g 离心 1 min, 弃流出液。
8. 加入 500 μL 去蛋白液 CCB (使用前确定已加入无水乙醇), 12,000 \times g 离心 30 s, 弃流出液。
9. 加入 500 μL 洗涤液 CWB (使用前确定已加入无水乙醇), 12,000 \times g 离心 30 s, 弃流出液。
10. 重复步骤 9 一次。
11. 把离心柱放回收集管中, 将空柱子于 15,000 \times g 离心 2 min 以便彻底去除残留的 CWB。
12. 将离心柱置于一干净的离心管中, 在超净台中开盖风干柱膜 3-5 min (CWB 中的乙醇残留可能抑制下游反应)。
13. 在离心柱膜中央加入 30-100 μL 洗脱液 EB, 静置 1 min (如需提高洗脱效率, 可提前将 EB 置于 60-70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴或金属浴中预热)。
14. 12,000 \times g 离心 1 min, 洗脱 DNA, 所得 DNA 置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 中长期保存。

【使用注意】

- 为避免产物污染或降解, 建议使用干净、无 DNase 污染的器械或耗材。
- 溶液使用前尽量充分混匀, 同时注意避免溶液间交叉污染。
- 本试剂盒按血液用量 3 mL 算。
- 本试剂盒不建议使用 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏超过 3 周的样本。
- 血培前样本建议加大样本用量, 后续搭配高灵敏度检测方法。