

## EasyPure® Microbiome DNA Isolation Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EE401

版本号: Version 1.0

### 产品说明

EasyPure® Microbiome DNA Isolation Kit是一款适用于从血液、肺泡灌洗液、液化痰液、鼻咽或口咽拭子、胸腹水、脑脊液、羊水等生物样品中分离纯化宿主和微生物基因组DNA的产品。试剂盒采用硅胶膜离心柱特异吸附微生物DNA, 分离富集的DNA适用于多种下游应用, 包括PCR、qPCR、宏基因组或16S rDNA文库构建等实验。可与TransNGS® Host DNA Depletion Kit (EH301) 搭配使用, 达到清除宿主核酸的效果。

### 特点

- 高质量、高得率满足多种下游多种检测
- 低背景减少假阳性

### 试剂盒组成

	Component	EE401-01 (50 rxns)
BOX 1	EasyPure DNA Columns with Collection Tubes	50个
BOX 2	Proteinase K (20 mg/ml)	700 µl×3
	Lysis Buffer 47 (LB 47)	23 ml
	Binding Buffer 47 (BB 47)	12 ml
	Clean Buffer 47 (CB 47)	15 ml
	Wash Buffer 47 (WB 47)	8 ml
	Elution Buffer (EB)	6 ml
	1×PBS	10 ml
	Lysis Tube	50个
	Elution Tube (1.5 ml)	50个

### 储存条件

EasyPure® Microbiome DNA Isolation Kit	储存条件和保存时间
BOX1	4°C, 保存一年
BOX2	15-25°C, 保存一年

### 自备试剂和仪器

- 无水乙醇 (分析纯)
- 带滤芯的Nuclease-free移液吸头
- 旋转混匀仪 (如DLAB®MX-RD-E等)
- 涡旋振荡仪 (如KylinBell® Vortex-10等)
- 样品均质仪 (如MP® FastPrep-96™等)
- 高速离心机 (转速≥13,000 rpm)
- 恒温水浴锅

### 样品要求

- 使用前请确保样品新鲜, 反复冻融将破坏微生物的完整性, 进而导致在使用去宿主核酸产品时会对暴露的微生物DNA造成损失。
- 请确保样品使用无菌介质采集和储存, 并于清洁区域内打开样品储存介质, 避免样品处理过程造成污染。



样品类型	推荐用量
血液样品（抗凝全血）	≤400 μl
生物体液样品（肺泡灌洗液、脑脊液、胸腹水、血清、血浆、液化痰液等）	宿主细胞≤1×10 <sup>7</sup>
拭子类（鼻、咽、口拭子）	宿主细胞≤1×10 <sup>7</sup>
菌液样品	菌体数≤1×10 <sup>9</sup>

## 微生物和宿主总DNA提取操作流程

### 试剂盒使用前请做好以下准备

- 如果Lysis Buffer 47（LB47）和Binding Buffer 47（BB47）出现沉淀，请在56°C条件下溶解后使用。
- 首次使用请参考Clean Buffer 47（CB47）和Wash Buffer 47（WB47）瓶身标签分别加入15 ml和32 ml的无水乙醇，并进行标注。

### DNA提取流程

#### Part A. 样品处理

- 若搭配TransNGS® Host DNA Depletion Kit (EH301)进行去宿主处理，则将处理后的液体直接转移至Lysis Tube，按照血液处理方案操作即可。

#### • 血液

1. 取400 μl 样品加入含玻璃珠的Lysis Tube中。依次向Lysis Tube中加入200 μl LB47、40 μl Proteinase K和200 μl BB47，涡旋混匀。

\*若样品量不足，使用PBS补足至400 μl。

2. 推荐以下两种方法进行细胞裂解（二者选一）：

(1) Lysis Tube置于涡旋振荡仪上，以最大转速涡旋10 min。

(2) Lysis Tube置于样品均质仪中选择合适程序（例如MP® FastPrep-96™参数设置可参考6.5 m/sec，60 sec，off 5 min，2 cycles）。

\*该步骤添加试剂后可能出现的絮状物不影响提取效率。

#### • 生物液体、拭子或微生物培养液

1. 将样品加入含玻璃珠的Lysis Tube中，于12,000 rpm转速下离心5 min，尽可能移除上清。根据实验需要，可重复此步骤进行多次样品富集。

\*若样品量≤400 μl，按照血液样品处理方案。

\*用移液器弃上清时，勿吸出玻璃珠。

2. 依次向Lysis Tube中加入400 μl LB47、40 μl Proteinase K和200 μl BB47，涡旋混匀。

推荐以下两种方法进行细胞裂解（二者选一）：

(1) Lysis Tube置于涡旋振荡仪上，以最大转速涡旋10 min。

(2) Lysis Tube置于样品均质仪中选择合适程序（例如MP® FastPrep-96™参数设置可参考6.5 m/sec，60 sec，off 5 min，2 cycles）。

\*该步骤添加试剂后可能出现的絮状物不影响提取效率。

#### Part B. DNA提取

1. 将Lysis Tube置于70°C孵育5 min，12,000 rpm离心1 min以消除泡沫，吸取全部上清液转移至新的1.5 ml离心管中。

\*若该步骤出现絮状物，使用移液器轻柔吹打混匀，将絮状物一同转移，勿吸入玻璃珠。

\*若离心1 min后仍有泡沫，可增加离心时间。

2. 向离心管中加入300 μl无水乙醇，振荡混匀，瞬时离心以收集管盖内壁上的液体。

\*加入无水乙醇若出现浑浊或絮状物，属于正常现象。



3. 将步骤2中全部混合液（包括絮状物）转移至EasyPure DNA Columns（吸附柱）中，12,000 rpm离心1 min。
4. 弃滤液，沿管壁加入500  $\mu$ l CB47（使用前请确认已加入无水乙醇）至吸附柱中，12,000 rpm离心1 min。
5. 弃滤液，沿管壁加入600  $\mu$ l WB47（使用前请确认已加入无水乙醇）至吸附柱中，13,000 rpm离心3 min，弃滤液。
6. 吸附柱重新置于收集管中，13,000 rpm空柱离心1 min。
7. 将吸附柱转移至新的1.5 ml Elution Tube中，向吸附柱中央悬空滴加50-100  $\mu$ l EB。室温孵育2-5 min，13,000 rpm离心1 min。

\*将EB预热至55°C，洗脱效果更佳。

\*将第一次洗脱所得溶液重新加入吸附柱进行二次洗脱可增加洗脱产物量。

8. 弃吸附柱，所得洗脱产物可直接用于下游实验或于-20°C保存。

#### 常见问题与解决方案

常见问题	原因	解决方案
微生物DNA损失	微生物细胞损失	最好使用新鲜样品，尽可能避免冷融
	弃上清操作导致的微生物损失	对于生物液体、拭子或微生物培养液样品富集移除上清时，切勿触碰底部沉淀
	微生物细胞破壁不充分	严格按照说明书操作，或适当延长机械破壁时间
	WB未添加无水乙醇或添加了低浓度乙醇	按瓶身标签正确添加指定体积的无水乙醇
	加入EB后，EasyPure DNA Column没有在室温孵育2-5 min	严格按照说明书操作
提取效率低	破壁不充分或富集样本细胞数过大	适当延长破壁时间或减少样本投入量
DNA纯度低	存在杂质离子污染	使用WB漂洗两次
	乙醇残留	确保EasyPure DNA Column在洗脱前不与滤液接触，或延长空柱离心时间
提取过程溶液出现沉淀	LB和BB在低温或长时间存放后可能会出现沉淀	若LB或BB中出现沉淀，须在56°C下孵育至沉淀全部溶解，才可使用
	加入BB后管内液体出现沉淀	加入BB后仅有少数情况下会出现白色絮状沉淀，该沉淀物会在后续70°C孵育条件下溶解





品质高于一切  
精品服务客户

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202209

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 [complaints@transgen.com.cn](mailto:complaints@transgen.com.cn)

Website [www.transgen.com.cn](http://www.transgen.com.cn)  
E-mail [trans@transgen.com.cn](mailto:trans@transgen.com.cn)

Customer Service +86-400-898-0321  
Phone +86-10-57815030

