**血液微生物DNA提取试剂盒**

**（磁珠法）**

**货号：KTSM2635**

**■ 产品简介：**

本试剂盒适用于从抗凝血液、肠道微生物中富集抽提微生物DNA，并高效去除细胞DNA。使用本试剂盒回收的DNA纯度高，完整性好，能同时提取病毒、革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和真菌DNA，可直接用于PCR、文库构建、高通量测序等下游实验。

**■主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2635（50次）** |
| 裂解液DLA（Buffer DLA） | 150 ml |
| 溶菌酶 | 2支 |
| DNaseⅠ | 1支 |
| DNase buffer | 1支 |
| Proteinase K | 1支 |
| 裂解液DLB（Buffer DLB） | 12.5 ml |
| 裂解液DLC（Buffer DLC） | 2.5 ml |
| 结合液DB（Buffer DB） | 50 ml |
| 磁珠悬浮液 | 1 ml |
| 漂洗液DW1（Buffer DW1） | 50 ml |
| 漂洗液DW2（Buffer DW2） | 30 ml |
| 洗脱缓冲液TE（Buffer TE） | 5 ml |

**■保存条件**：

该试剂盒置于室温（15-25℃）干燥条件下，可保存12个月，更长时间的保存可置于2-8℃。2-8℃保存条件下，若溶液产生沉淀，使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间，必要时可在37℃水浴中孵育10 min，以溶解沉淀。

**■产品特点**：

灵敏度高：无需血培养，可直接从新鲜血液中提取出微量的微生物基因组；

完整性好：可同时提取病毒、革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和真菌DNA。经测试，所提微生物种类丰富，优于国内外同类产品；

简便快捷：能够集中在相对较短时间内完成实验操作；

高纯度：与磁珠法纯化相结合，提取的DNA纯度高，可直接用于下游实验；

高通量：可整合自动化仪器进行高通量提取实验。

**■ 注意事项（请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项）：**

（1）自备试剂：异丙醇，乙醇；

（2）若裂解液中有沉淀，可在37℃水浴中重新溶解，摇匀后使用；

**■操作步骤：使用前请先在结合液中加入异丙醇，漂洗液中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶子上的标签。**

**一、全血中提取微生物（第1-17条）**

**二、血浆/血清中提取微生物（第A，4-17条）**

（A）转移适量体积血清或血浆至离心管中，加入3倍体积的裂解液DLA至样品中，颠倒混匀5-10次。室温静置10 min；

（1）转移1~5 ml抗凝血液、培养血液或其它液体样品至15~50 ml离心管中，加入3倍体积的裂解液DLA至样品中，颠倒混匀5~10次。室温静置15 min让细胞充分裂解，3000~5000g离心10 min收集微生物；

（2）小心吸弃上清，余下50 μl残液；

（3）加440 μl缓冲液 TE、50 μlDNase buffer和10 μl DNase至残液中，用移液枪吸打吹散沉淀，转移至1.5 ml离心管中。37℃孵育15 min进一步消化去除残留的细胞 DNA；

（4）10000g离心3 min收集微生物，小心吸弃上清液；

（5）加入250 μl裂解液DLB和75 μl溶菌酶至样品中，涡旋打散样品。50℃水浴15 min；

（6）加入50 μl裂解液DLC和10 μl蛋白酶K至样品中，65℃水浴10 min，95℃水浴10 min；

（7）加入两倍体积的结合液 DB（使用前加入异丙醇）振荡混匀10 sec；

（8）加入20 μl磁珠悬浮液，振荡混匀10 min，期间每间隔3 min涡旋一次；

**注意：为了确保磁珠彻底重悬，请在使用前振荡混匀。**

（9）将离心管置于磁力架上，静置2 min，磁珠完全吸附后，吸去液体，小心勿碰到磁珠；

（10）将离心管从磁力架取下，加入500 μl漂洗液DW1（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀1 min；

（11）将离心管置于磁力架上，静置30 sec，磁珠完全吸附后，吸去液体，小心勿碰到磁珠；

（12）重复步骤10-11一次；

（13）将离心管从磁力架取下，加入600 μl漂洗液DW2（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀1 min；

（14）将离心管置于磁力架上，静置30 sec，磁珠完全吸附后，吸去液体，小心勿碰到磁珠；

（15）将离心管置于磁力架上，室温晾干5-10 min或通风橱干燥3 min；

**注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱DNA。**

（16）将离心管从磁力架取下，加入50-100 μl洗脱缓冲液TE，振荡混匀，磁珠应完全浸没于缓冲液中，置于56℃，孵育5 min，期间振荡混匀1-2次，每次5 sec；

（17）将离心管放置于磁力架上静置1 min，磁珠完全吸附后，小心将DNA溶液转移至一个新离心管中，并于适当条件保存。