

HiPure Microbiol RNA/DNA Kit

微生物 RNA 和 DNA 共提试剂盒

产品简介

本产品采用玻璃珠研磨法和硅胶柱纯化技术，可快速安全地从各种细菌、酵母或真菌培养液或体液样品中同时提取得到 RNA 和 DNA。纯化柱优选高性能的超细玻璃纤维滤膜为材料，高效专一吸附 DNA 或 RNA。提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，整个提取过程只需 30 分钟。本产品适合处理 $\leq 1 \times 10^9$ 细菌和 $\leq 1 \times 10^7$ 真菌或酵母样品同时提取得到 RNA 和 DNA。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、Poly A 纯化，核酸保护和体外翻译等实验。得到的 DNA 可直接用于 PCR、Southern Blot 等实验。

产品组份

| 产品编号 | R5119-01 | R5119-02 |
|-----------------------------|----------|----------|
| 纯化次数 | 10 次 | 50 次 |
| HiPure RNA Mini Columns I | 10 | 50 |
| HiPure DNA Mini Columns III | 10 | 50 |
| 2ml Collection Tubes | 20 | 100 |
| Glass Beads (0.1~0.6mm) | 10 g | 50 g |
| 塑料小勺子 | 2 个 | 10 个 |
| Buffer STL | 6 ml | 30 ml |
| Buffer GXP | 6 ml | 30 ml |
| Buffer GWP | 6 ml | 30 ml |
| Buffer RW1 | 6 ml | 30 ml |
| Buffer RW2* | 10 ml | 50 ml |
| Nuclease Free Water | 10 ml | 30 ml |

版本号：202401

保存条件

HiPure Microbiol DNA/RNA Kit 可在室温下(15-25℃)干燥保存 18 个月。

准备事项

- 在 Buffer RW2 中，加入 4 倍体积无水乙醇，于室温保存。
- 在 Buffer GW1 中，加入适量的体积无水乙醇，于室温保存。
- 提升裂解液的变性能力：使用前分装适量的 Buffer STL，按每 1ml Buffer STL 加入 20 μ l β -巯基乙醇、1M DTT 或 1M TCEP，混合液室温可保存 1 周。TCEP，中文名为三(2-羧乙基)膦酸盐，是一种高效、无异味、不含硫醇基还原剂，可高效灭活核酸酶和防止多酚氧化，可代替 2-巯基乙醇，提高 RNA 的完整性和得率。

实验方案：微生物 DNA 和 RNA 同时提取

1. 微生物的收集：

- 液体培养微生物：取 0.5~1.8ml 微生物培养液（细菌不超过 1×10^9 ，真菌或酵母不超过 1×10^7 ）至 2.0ml 离心管，13,000 \times g 离心 1 分钟收集微生物，倒弃全部培养液。
- 固体培养微生物：加入 1.5~1.8ml 生理盐水或 PBS 从固体培养基上刮洗出菌体，并转移至 2.0ml 离心管中，13,000 \times g 离心 1 分钟收集真菌，倒弃上清液。
- 真菌粉末(孢子粉)：转移 30~50mg 孢子粉至 2.0ml 离心管中。
- 体液中寄生微生物：取 1~20ml 血清、血浆、积液、培养液上清、分泌液、尿液、灌洗液、唾液等至合适的离心管中，13,000 \times g 离心 10 分钟收集微生物，倒弃液体，余下 100 μ l 残液，涡旋重悬后转移至 2.0 离心管中。

2. 加入 0.4ml 裂解液 STL 和一勺 Glass Beads (0.1~0.6mm)至样品中，转移至涡旋仪上最高速度涡旋 10 分钟，或转移至珠磨机进行高效珠磨 30-60 秒。

- 涡旋仪：推荐使用美基涡旋仪 MagMix A，涡旋仪带 2ml 离心管的夹具，可一次高效处理 10~20 个样品。实验室常用涡旋仪或带振荡功能的恒温金属浴也可以使用，使有恒温金

属浴时需要 2ml 离心管中，让管子间的摩擦力防止管子无效旋转。

- PowerLyzer 珠磨仪：建议 2000rpm 珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 2000rpm 珠磨 30 秒。
 - FastPrep24 珠磨仪：建议 5m/s，珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 5m/s 珠磨 30 秒。
 - Tissue Lysis II 珠磨仪：建议 25Hz 珠磨 5 分钟，重新调整位置后再 25Hz 珠磨 5 分钟。
3. 加入 0.5ml 结合液 GXP，涡旋 5 秒。室温下， $12,000 \times g$ 离心 3 分钟。
 4. 把 HiPure DNA Mini Column 装在 2ml 收集管中，转移~0.75ml 上清液转移至 DNA 柱子中。
 $12,000 \times g$ 离心 2 分钟。
 5. 取 HiPure DNA Mini Column 装在新的收集管中，按第 14-20 步进行 DNA 提取。

过柱纯化 RNA

6. 加入 0.5 倍体积无水乙醇至滤液中，用移液枪吸打 3~5 次。
7. 把 HiPure RNA Mini Column 装在旧的收集管中，转移 $\leq 750\mu\text{l}$ 混合液至柱子中。 $12,000 \times g$ 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 $500\mu\text{l}$ Buffer RW1 至柱子。 $12,000 \times g$ 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 $500\mu\text{l}$ Buffer RW2 至柱子。 $12,000 \times g$ 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 $500\mu\text{l}$ Buffer RW2 至柱子。 $12,000 \times g$ 离心 1 分钟。
11. 倒弃流出液，把柱子装回收集管。 $12,000 \times g$ 离心 2 分钟。
12. 将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 $30-100\mu\text{l}$ RNase Free Water 至柱子膜中央，室温静置 2 分钟。 $12,000 \times g$ 离心 1 分钟。
13. 弃去柱子，把 RNA 保存于 -80°C 。

过柱纯化 DNA

14. 加入 500 μ l Buffer GWP 至 HiPure DNA Mini Column (第 3 步) 中, 静置 1 分钟, 12,000 \times g 离心 1 分钟。
15. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管, 加入 500 μ l Buffer RW2 至柱子。12,000 \times g 离心 1 分钟。
16. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管, 加入 500 μ l Buffer RW2 至柱子。12,000 \times g 离心 1 分钟。
17. 倒弃流出液, 把柱子装回收集管。12,000 \times g 离心 2 分钟。
18. 将 DNA 柱子装在 1.5ml 离心管中。加入 50~100 μ l 预热至 65 $^{\circ}$ C Nuclease Free Water 至柱子的膜中央, 室温静置 5 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
19. 再加入 50~100 μ l 预热至 65 $^{\circ}$ C Nuclease Free Water 至柱子的膜中央, 室温静置 5 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
20. 弃去 DNA 柱, 把 DNA 保存于 2~8 $^{\circ}$ C 或 -20 $^{\circ}$ C。