

Bacteria Genomic DNA Extraction Kit

细菌样本基因组 DNA 提取试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1044A	细菌样本基因组 DNA 提取试剂盒	50T

产品简介:

本试剂盒采用高效、特异性结合核酸的离心柱配合独特的缓冲液系统,使裂解液中的 DNA 高效特异地结合到硅基质吸附柱上。适合从各种细菌(革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌)中快速提取高质量的基因组 DNA,每次可处理 $10^6\sim 10^8$ 个细菌。提取过程无需使用苯酚或氯仿等有毒试剂,得到的 DNA 浓度和纯度高,可直接用于酶切、PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

产品特点:

- ◇ 安全低毒: 无需酚、氯仿等有毒试剂;
- ◇ DNA 质量高: 提取的 DNA 浓度和纯度较高,适用于对浓度、纯度和完整性要求较高的下游实验。

产品组成:

编号	组分	规格
1	Buffer GB1	15 mL
2	Buffer GB2	15 mL
3	Buffer GW1	13 mL
4	Buffer GW2	15 mL
5	Buffer TE	15 mL
6	Proteinase K(20 mg/mL)	1.0 mL
7	DNA Columns & Collection Tubes (2.0 mL)	50 套

使用方法:

使用前请先按照瓶上的标签,在 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入相应体积的无水乙醇。

1. 取细菌培养物 1~5 mL ($10^6\sim 10^8$ 个细菌,最多不超过 2×10^9 个细菌,太多会导致吸附柱堵塞,降低浓度和纯度)置于离心管(自备)中,10,000 rpm ($\sim 11,500 \times g$) 离心 1 min,尽量吸净上清;

2. 向菌体沉淀中加入 200 μ L Buffer GB1,振荡使菌体彻底重悬;

注意:

(a) 对于难破壁的革兰氏阳性菌,可省去步骤 2,加入 180 μ L 溶菌酶溶液处理。(溶菌酶溶液配制: 70 μ L 溶菌酶溶液(50 mg/ml, 自备)+110 μ L 缓冲液(20 mM Tris pH=8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2 % Triton X-100), 37°C 孵育 30 min 以上;

(b) 如需去除 RNA,可在上述步骤完成后,加入 4 μ L 浓度为 100 mg/mL 的 RNase A 溶液,振荡混匀 15 s,室温放置 5 min。

3. 加入 20 μ L Proteinase K, 混匀;

4. 加入 220 μ L Buffer GB2,振荡 15 s, 70°C 孵育 10 min, 溶液应变清亮, 短暂离心以去

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



除管盖内壁水珠:

注意: 加入 Buffer GB2 可能会产生白色沉淀, 70°C 孵育后一般会消失, 不影响后续实验。若溶液未变清亮, 说明细胞裂解不彻底, 可能会导致提取的 DNA 量少且不纯;

5. 加入 200 μL 无水乙醇, 涡旋震荡充分混匀; 短暂离心去除管盖内壁的水珠;

6. 将步骤 5 所得溶液(包括形成的沉淀)全部加入已装入收集管的吸附柱(DNA Columns)中, 若一次不能加完溶液, 可分多次转入。12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$) 离心 30 s, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中;

7. 向吸附柱中加入 500 μL Buffer GW1(使用前检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 30 s, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中;

8. 向吸附柱中加入 600 μL Buffer GW2(使用前检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 30 s, 倒掉收集管中的废液;

9. 重复步骤 8;

10. 将吸附柱重新放回收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 倒掉收集管中废液。开盖于室温晾干数分钟;

注意: 此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 漂洗液的乙醇的残留可能会影响后续的酶反应(酶切、PCR 等)。

11. 将吸附柱置于新的离心管(自备)中, 向吸附柱中间部位悬空加入 50~200 μL Buffer TE 或灭菌水, 室温放置 2~5 min, 12,000 rpm($13,000 \times g$)离心 2 min, 收集 DNA 溶液, -20°C 保存 DNA。

注意:

(a) 若需增加产量, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 室温放置 2~5 min, 12,000 rpm 离心 1 min;

(b) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感, 可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有较大影响, 若用水作洗脱液应保证其 pH 值在 7.0~8.5(可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围), 如需长期保存, 推荐用 Buffer TE 洗脱并于 -20°C 保存。

注意事项:

1. 第一次使用前, 按瓶上标签要求在 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入相应体积的无水乙醇;
2. 使用前请检查 Buffer GA1 和 Buffer GA2 是否出现沉淀, 如有请于 56°C 水浴溶解后使用;
3. 如果提取次生代谢产物大量积累或细胞壁厚的细菌培养物的基因组, 建议在对数生长期早期收集样品。;
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品;
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

室温保存 12 个月, Proteinase K 保存条件 -20°C。

