

细菌基因组DNA快速提取试剂盒（含蛋白酶K）

产品货号：26791

产品规格：50次/200次

产品简介：

本试剂盒适用于快速提取各种细菌基因组DNA，可在30min内完成单个或多个样本的提取工作。基于独特的结合液/蛋白酶K迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，基因组DNA在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗、离心等步骤，进一步将蛋白、多糖、多酚以及细胞代谢物等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组DNA从硅基质膜上洗脱。

不同样本提取DNA的大致产量与纯度如下：

样本类型	样本量	DNA平均产量	纯度 (OD260/OD280)
革兰氏阴性菌 (如大肠杆菌)	$2 \times 10^8 \text{ cell/mL}$	15-20 μg	1.7-1.9
革兰氏阳性菌 (如表皮葡萄球菌)	$3.5 \times 10^8 \text{ cell/mL}$	6-13 μg	1.7-1.9

产品组成：

产品名称	50次	200次	保存条件
平衡液	5mL	20mL	室温
缓冲液RB	30mL	120mL	室温
结合液CB	11mL	40mL	室温
抑制剂去除液IR	25mL	100mL	室温
漂洗液WB	15mL	25mL×2	室温
	第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇		
	60mL	100mL×2	
洗脱缓冲液EB	15mL	40mL	室温
蛋白酶K溶液（20mg/mL）	1mL	1mL×4	-20℃
吸附柱AC	50个	200个	室温
收集管（2mL）	50个	200个	室温

自备材料：

异丙醇、无水乙醇、Lysozyme（溶菌酶）（用于革兰氏阳性菌）、lysostaphin（用于某些难裂解的革兰氏阳性菌）、RNaseA

注意事项：

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- 所有离心操作步骤，均在室温（15-25 $^{\circ}\text{C}$ ）下进行。
- 结合液CB或者抑制物去除液IR低温时可能出现析出和沉淀，可以在37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却至室温即可使用。
- 结合液CB和抑制物去除液IR中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

4. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH值变化，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
5. 首次使用前请先在漂洗液WB中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
6. 关于平衡液的使用：取一个新的硅胶膜吸附柱装在收集管中，取100 μ L的平衡液至柱中。12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心1min，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管。此时平衡液预处理柱完毕。平衡液在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至37 $^{\circ}$ C使沉淀完全消失。

使用方案：

1. 取0.5-2mL培养菌液（最多不超过 2×10^9 个细胞），10,000rpm (11,260 $\times$ g)，离心30s，尽可能的吸弃上清，收集菌体。
▲起始处理量可以根据细菌密度、细胞种类、预期产量进行调整，但是离心吸附柱最大吸附能力是20 μ g基因组DNA，如果菌体过量超过最大吸附能力，反而会严重降低产量。
2. 加入200 μ L缓冲液RB重悬，10,000rpm (11,260 $\times$ g) 离心30s，弃上清。将细胞振荡或者吹打充分重悬于180 μ L缓冲液RB中。
▲注意：对于较难破壁的革兰氏阳性菌，可略过第2步骤，加入溶菌酶进行破壁处理，具体方法为：加入180 μ L缓冲液（20mM Tris, pH8.0; 2mM Na₂-EDTA; 1.2% TritonX-100; 临用前加入终浓度为20mg/mL的溶菌酶；溶菌酶必须用溶菌酶干粉溶解在缓冲液中进行配制，否则会导致溶菌酶无活性），37 $^{\circ}$ C处理30min以上。
3. 加入20 μ L蛋白酶K（20mg/mL）溶液，充分混匀，再加入200 μ L结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在70 $^{\circ}$ C放置10min。
▲可选步骤：如果RNA残留较多，需要去除RNA，可以在加入200 μ L结合液CB前加4 μ L RNaseA（100mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10min。
4. 冷却后加入100 μ L异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
▲上述步骤中立刻涡旋或者吹打充分混匀非常重要，混匀不充分严重降低产量，必要时如样品粘稠不易混匀时可以涡旋振荡15s混匀。
5. 将上一步混合物（包括可能有的沉淀）加入用平衡液预处理过的吸附柱AC中，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心30-60s，倒掉收集管中的废液。
6. 加入500 μ L抑制物去除液IR，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心30s，弃废液。
7. 加入600 μ L漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心30s，弃废液，重复该步骤一遍。
8. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心2min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
9. 取出吸附柱AC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加100 μ L洗脱缓冲液EB（事先在65-70 $^{\circ}$ C水浴中预热效果更好），室温放置3-5min，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心1min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置2min，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心1min。
▲洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要DNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于30 μ L，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。
10. DNA可以存放在2-8 $^{\circ}$ C，如果要长时间存放，可以放置在-20 $^{\circ}$ C。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com