

细菌基因组 DNA 提取试剂盒

Bacterial Genomic DNA Extraction Kit



产品货号: M7424S, M7424M

产品规格: 10 rxns, 100 rxns

储存条件: 2~35°C保存, 有效期见外包装

产品组分

组分	组分含量	
	M7424S	M7424M
A. 磁珠悬液	0.2 mL	2 mL
B. 缓冲液	3 mL	30 mL
C. 裂解液	2.5 mL	25 mL
D. 洗涤液 I	6 mL	60 mL
E. 洗脱液	2 mL	20 mL
F. 蛋白酶 K	0.2 mL	2 mL
G. 溶菌酶	36 mg	360 mg

产品介绍

本产品适用于从细菌培养液等样本中提取基因组DNA。提取利用超顺磁性微球搭配特定的缓冲体系可以特异性结合细菌基因组DNA, 通过洗涤去除DNA以外的蛋白质等杂质。洗脱液解离吸附在磁珠上的DNA, 分离纯化得到高质量核酸。提取的产物可用于各种分子实验, 例如酶切、PCR等。

实验步骤

一. 首次使用前

1. 在洗涤液I中缓慢加入指定量(见瓶身标签)的异丙醇(分析纯, 需客户自备), 并打上“√”, 混匀后2~8°C保存。
2. 在溶菌酶干粉中加入指定量(见管身标签)的缓冲液, 并打上“√”, 混匀后分装保存于-20°C, 避免反复冻融, 建议冻融不超过3次, 以免影响其活性。



二. 客户自备物品

1. 异丙醇（分析纯）
2. 80%乙醇
3. 1.5 mL离心管：3个/样品
4. 单通道移液器：20 μ L、200 μ L、1000 μ L
5. 漩涡振荡器
6. 垂直混合仪
7. 恒温金属浴或水浴锅（75°C、56°C）
8. 磁性分离器：可选用UE磁性分离器（货号：M7429）
9. RNaseA（50mg/mL）：可根据需要选配

二. 操作步骤

1. 样本处理：取0.5~5 mL细菌培养液（ $<2 \times 10^9$ 细菌量），10000 rpm 离心1~3min，弃上清。加入200 μ L缓冲液，振荡至菌体彻底悬浮。

注意：对于较难破裂的革兰氏阳性菌，可直接加入110 μ L缓冲液和70 μ L溶菌酶，37°C处理30 min以上。（检查溶菌酶是否已加入缓冲液）

如果需要去除RNA，可加入10 μ L RNaseA（50 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置10 min。

2. 裂解：向管中加入20 μ L蛋白酶K和230 μ L裂解液，以漩涡振荡器最大转速漩涡震荡10 s后，置于75°C条件下反应15 min，每5 min振荡混匀一次。

3. 结合：加入300 μ L异丙醇和20 μ L磁珠悬液，漩涡震荡10 s后，置于垂直混合仪上反应3 min（或室温静置，每1分钟振荡混匀一次）。然后将离心管置于磁性分离器上放置2 min，用移液器移去上清液并取下离心管。

注意：此步骤的磁性分离时间应不少于2 min。

4. 洗涤

（1）加入600 μ L洗涤液I（检查是否已加入异丙醇），以漩涡振荡器最大转速漩涡震荡至少1 min，使磁珠充分重悬，再将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，移去上清液并取下离心管。

（2）重复该步骤一次。

（3）加入600 μ L 80%乙醇，以漩涡振荡器最大转速漩涡震荡至少1 min，使磁珠充分重悬，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，移去上清液并取下离心管。

（4）重复该步骤一次。

注意：最后一步洗涤应尽量除尽洗涤液。

5. 干燥：保持离心管于磁性分离器上，于室温下静置5~10 min后，即磁珠表面无明显光泽，取下离心管。

注意：干燥过程中若发现反应管中有液体残留时，可用小量程移液器吸弃液体。

6. 洗脱

（1）加入100~200 μ L洗脱液，漩涡震荡，或用移液器缓慢吹打磁珠，使磁珠充分重悬。然后于56°C条件下孵育6 min。

（2）将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，转移上清液至新的1.5 mL离心管中，此即为纯化得到的基因组DNA，可进行后续实验或保存于-20°C。



注意事项

1. 操作之前，请务必认真阅读本产品手册。
2. 样品的质量对产物DNA的纯化量有较大影响，应避免反复冻融样品。
3. 长期保存时，建议将蛋白酶K、溶菌酶保存在-20℃，磁珠悬液保存在2~8℃。
4. 应避免对磁珠进行冷冻、离心等操作。
5. 磁珠取用前应充分重悬均匀。
6. 磁珠干燥前，应使用移液器吸尽洗涤液。
7. 应避免磁珠过度干燥，否则会严重降低核酸洗脱效率。
8. 建议使用质量较好的离心管和移液器吸头，避免因粘附磁珠而造成损失。

