

细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书

货号: D1600

规格: 50T/ 100T

保存: 室温(15°C-25°C) 干燥保存, 复检期 12 个月, 2°C-8°C保存时间更长。

试剂盒内容:

组份	D1600-50T	D1600-100T
RNase A	1 mL×2	1 mL×4
蛋白酶 K	1 mL	1 mL×2
溶液 A	15 mL	30 mL
溶液 B	15 mL	30 mL
漂洗	15 mL	15 mL×2
洗脱液	10 mL	20 mL
吸附柱	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个

产品简介:

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,提取细菌基因组 DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,能够高效专一吸附 DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组 DNA 片段大,纯度高,质量稳定可靠。使用本试剂盒提取的基因组 DNA 可用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

操作步骤 (仅供参考):

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇,加入体积请参照瓶体上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。本试剂盒仅适用于革兰氏阴性菌基因组提取,若用于革兰氏阳性菌基因组提取,需自备部分试剂或者选购“D1650-革兰氏阳性菌基因组 DNA 提取试剂盒”。

1. 取细菌培养液 1-5 mL, 12000 rpm 离心 1 min., 尽量吸除上清。
2. 向菌体中加入 250 μ L 溶液 A, 振荡或用移液器吹打使菌体充分悬浮, 向悬浮液中加入 40 μ L 的 RNase A (10 mg/mL), 振荡 15sec, 室温放置 5 min。

注意: 如果是革兰氏阳性菌, 可在第 2 步操作前加入溶菌酶溶液进行破壁处理, 溶菌酶及溶菌酶缓冲液需自备, 具体方法为: 向菌体加入 500 μ L 70%乙醇, 冰浴 20min, 12000rpm 离心 1min, 弃上清, 菌体沉淀加入 110 μ L 溶菌酶的缓冲液 (20mM Tris, pH8.0; 2mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton X-100) 和 70 μ L 溶菌酶溶液 (50-100mg/mL), 37°C处理 30-60min。

3. 向管中加入 20 μ L 的蛋白酶 K(10mg/mL), 充分混匀, 70°C放置 10 min, 此时可见菌液呈清亮粘稠状。
4. 向管中加入 220 μ L 溶液 B, 振荡 15sec, 70°C放置 10 min, 瞬时离心以去除管盖内壁的水珠。

5. 向管中加入 220 μL 无水乙醇，充分混匀，振荡 15sec，溶液变清亮，此时还可能会出现絮状沉淀，不影响 DNA 的提取，可将溶液和絮状沉淀都加入到吸附柱中，静置 2 min。
6. 12000 rpm 离心 2 min. 弃废液，将吸附柱放入收集管中。
7. 向吸附柱中加入 600 μL 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)。12000 rpm 离心 1 min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
8. 向吸附柱中加入 600 μL 漂洗液。12000 rpm 离心 1 min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
9. 重复操作步骤 8。
10. 12000 rpm 离心 2 min，将吸附柱敞口置于室温或 50°C 温箱放置数分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，否则漂洗液中的乙醇会影响后续实验，如酶切、PCR 等。
11. 将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加 50-200 μL 经 65°C 水浴预热的洗脱液，室温放置 5 min，12000 rpm 离心 1 min。
12. 离心所得洗脱液再加入吸附柱中，室温放置 2 min，12000 rpm 离心 2 min，即可得到高质量的细菌基因组 DNA。

注意事项:

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
2. 若试剂盒中的溶液出现沉淀，可在 65°C 水浴中重新溶解后再使用，不影响提取效果。
3. 如果实验中的离心步骤出现柱子堵塞的情况，可适当延长离心时间。
4. 洗脱缓冲液的体积最好不少于 50 μL ，体积过小会影响回收效率；洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响，若需要用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右(可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围)，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。
5. DNA 浓度及纯度检测：得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰，OD₂₆₀ 值为 1.0 相当于大约 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 双链 DNA、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

相关产品:

D1010 6×DNA Loading Buffer

T1060 50×TAE 缓冲液

T1050 5×TBE 缓冲液

G8142 GoldView II 型核酸染色剂(5000×)

D1100 质粒少量提取试剂盒

相关文献:

- [1] Jirong Lan, Yan Sun, Li Guo, et al. A novel method to recover ammonia, manganese and μL fate from electrolytic manganese residues by bio-leaching. Journal of Cleaner Production. June 2019;499-507. (IF 5.651)

注：更多使用本产品的文献请参考索莱宝官网。