

细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书

RM0321

保存条件

室温(15°C-25°C) 干燥保存, 1 年有效; 2°C-8°C 保存时间更长。

产品信息

产品名称	产品货号	规格
细菌基因组 DNA 提取试剂盒	RM0321S	50 次
	RM0321M	100 次

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, 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。

产品内容

组成	RM0321S	RM0321M
RNase A	1mL	1mLx2
蛋白酶 K	1mL	1mLx2
溶液 A	10mL	20mL
溶液 B	10mL	20mL
漂洗液	15mL	15mLx2
洗脱液	10mL	20mL
吸附柱	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

使用方法

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。

- 1、取细菌培养液 1ml, 12000rpm 离心 1min., 尽量吸除上清。
- 2、向菌体中加入 200ul 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 20ul 的 RNase A (10mg/ml), 充分颠倒混匀, 室温放置 15-30min。

注意: 如果是革兰氏阳性菌: 可在第 2 步操作前用 200ul 终浓度为 20mg/ml 的溶菌酶, 37°C 处理 30 min 以上。(溶菌酶的缓冲液用: 20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2%

TritonX-100)

- 3、向管中加入 20ul 的蛋白酶 K(10mg/ml)，充分混匀，55℃消化 30-60min，消化期间可颠倒离心管混匀数次，直至样品消化完全为止，此时可见菌液呈清亮粘稠状。
- 4、向管中加入 200ul 溶液 B，充分颠倒混匀，如出现白色沉淀，可于 75℃放置 15-30min，沉淀即会消失，不影响后续实验。如果溶液未变清亮，说明样品消化不彻底，可能会导致 DNA 的提取量以及纯度降低，还可能堵塞吸附柱。
- 5、向管中加入 200ul 无水乙醇，充分混匀，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 2min。
- 6、12000rpm 离心 2min. 弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 7、向吸附柱中加入 600ul 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)。12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 8、向吸附柱中加入 600ul 漂洗液，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 9、12000rpm 离心 2min，将吸附柱敞口置于室温或 50℃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。
- 10、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 50-200ul 经 65℃水浴预热的洗脱液，室温放置 5min，12000rpm 离心 1min。
- 11、离心所得洗脱液再加入吸附柱中，室温放置 2min，12000rpm 离心 2min，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℃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 50ul，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℃，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 50μg/ml 双链 DNA、40μg/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。