

细菌基因组DNA快速提取试剂盒

货号：DD107-01

规格：50次

保存：15-25℃

【产品概述】

本产品独特的结合液/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—离心的步骤，抑制物去除液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，在低盐洗脱缓冲液作用下得到纯净的基因组DNA。

【产品组分】

货号	组分	体积
DD107-101	平衡液	5 ml
DD107-102	裂解液GY	30 ml
DD107-103	结合液CB	11 ml
DD107-104	去蛋白液PE（首次使用前按说明加指定量无水乙醇）	16 ml
DD107-105	漂洗液WB（首次使用前按说明加指定量无水乙醇）	13 ml
DD107-106	洗脱缓冲液EB	10 ml
DD107-107	蛋白酶K溶液	1 ml
DD107-108	吸附柱&收集管（2ml）	50套

【保存条件】

室温（15-25℃）保存，保质期一年。

注意事项：

- （1）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，在37℃水浴几分钟重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- （2）蛋白酶K保存在即用型甘油缓冲液中，常温运输，收到后，不超过25℃室温至少保存6个月，4℃保存12个月，-20℃保存2年。

【产品特点】

- 1. 本产品不需要使用苯酚，不需要乙醇沉淀。
- 2. 快速，简捷，单个样品操作30分钟内完成。
- 3. 多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀比值达1.7~1.9，长度可达30kb -50kb，可直接用于PCR，Southern-blot和各种酶切反应。

【实验准备】

- 1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000rpm的台式离心机。
- 2. 需要自备异丙醇（也可以用无水乙醇替代）、Lysozyme（溶菌酶）（用于革兰氏阳性菌）。
- 3. 实验前将水浴先预热到37℃或者70℃备用。

【操作步骤】

提示：首次使用前请在去蛋白液PE、漂洗液WB中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时标注，以免重复。

- 1. 取0.5ml-2ml培养菌液（最多不超过2×10⁹个细胞），13,000rpm，离心30秒，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30 μg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. 向菌体沉淀中加入180 μ l裂解液GY，振荡或者吹打至菌体彻底悬浮。

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150 μ l裂解液GY振荡或者吹打至菌体彻底悬浮，加入30 μ l溶菌酶（50 mg/ml），混匀，37°C处理30 min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°C放置10分钟。

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5 μ l RNase A (100mg/ml)溶液，振荡混匀，室温放置5-10分钟。

4. 柱平衡：向吸附柱中加入100 μ l平衡液，13,000 rpm离心1 min，弃滤液，备用。

注：平衡液可以增强硅胶膜的吸附核酸能力，请使用当天处理的吸附柱。

5. 冷却后加入100 μ l异丙醇（也可以用无水乙醇替代），**立刻涡旋振荡充分混匀**，此时可能会出现絮状沉淀。

注：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混匀。

6. 将上一步混合物（包括可能有的沉淀）加入一个吸附柱中，（吸附柱放入收集管中）13,000 rpm离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液。

7. 加入500 μ l去蛋白液PE（**请确认已加入无水乙醇**），13,000 rpm离心30 sec，弃废液。

8. 加入600 μ l漂洗液WB（**请确认已加入无水乙醇**），13,000 rpm离心30 sec，弃废液。

9. 重复步骤8一遍。

10. 将吸附柱放回空收集管中，13,000 rpm离心2 min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

11. 取出吸附柱，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加50-100 μ l洗脱缓冲液EB（洗脱缓冲液事先在80-100°C水浴中预热可以提高产量），室温放置2-4 min，13,000 rpm离心1 min。

注：可将第一次洗脱所得溶液重新加入离心柱中，室温放置2 min，13,000 rpm离心1 min。可以提高浓度10%左右。

注：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。

12. DNA可以存放在-20°C，长时间保存可以放置在-70°C。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，承诺为您更换等量合格产品，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。