

细菌基因组DNA提取试剂盒 Bacterial Genome DNA Extraction Kit

产品编号: C6206

保存条件: Proteinase K保存于-20℃; 其他组份室温干燥可保存一年, 4℃保存可更长时间。

产品介绍: **产品简介**

本试剂盒适用于从细菌中制备高质量的基因组 DNA。优化的缓冲液体系能迅速裂解细菌和灭活细胞内核酸酶, 然后基因组 DNA 在高盐状态下选择性吸附于硅基质膜上, 再通过快速的漂洗、离心步骤, 去除细菌代谢物和蛋白等, 最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱下来。使用本试剂盒可从过夜培养的细菌培养液中快速提取高纯度的基因组 DNA, 可直接进行 PCR、酶切和杂交等相关分子生物学实验。

产品组份

Buffer GTL: 12 ml Buffer GL: 12 ml Buffer GW1: 13 ml Buffer GW2: 15 ml Buffer GE: 10 ml Proteinase K: 1 ml Spin Column With Collection Tubes: 50 套

自备试剂

溶菌酶(革兰氏阳性菌用)、溶菌酶缓冲液(20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton X-100)、无水乙醇、RNase A(可选)。

操作步骤

注意: 使用前请先在缓冲液 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取 0.5-3 ml 过夜培养的菌液, 室温 10,000 rpm 离心 1 min, 弃上清。注意: 根据菌液的浓度决定取液量, 当 OD₆₀₀=1 时, 1ml 菌液浓度为 10⁹个细胞, 菌液的量不要超过 10⁹个细胞, 太多会使离心柱的膜堵塞, 提取的基因组 DNA 的量减少, 纯度降低。
2. 加入 200 ul Buffer GTL, 用枪头充分吹打或用涡旋振荡器充分悬浮。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 180 μl 终浓度为 20 mg/ml 的溶菌酶缓冲液(20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton X-100; 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 °C 处理 30 min 以上。如要去除 RNA, 可加入浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 4 ul, 室温处理 5 min。
3. 加入 20 ul Proteinase K 溶液, 充分混匀。

4. 加入 200 ul Buffer GL，充分混匀，56℃水浴 10 min，孵育过程中每隔一段时间颠倒或震荡离心管使样本分散均匀。溶液变得清亮后短暂离心，以去除管盖内壁的水珠。
注意：Buffer GL 加入时可能会产生白色沉淀，一般 56℃时会消失，不影响后续实验，如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取的 DNA 量少或者提取的 DNA 不纯。
5. 加入 200 ul 无水乙醇，充分震荡，此时可能会出现絮状沉淀，短暂离心以去除管盖内壁水珠。
6. 将一个离心吸附柱放入收集管中，将上一步所得溶液和絮状沉淀转移到吸附柱中，12,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中的滤液。
7. 向吸附柱内加入 500 ul 的 Buffer GW1，室温 12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中滤液。注意：按要求在 Buffer GW1 中加入无水乙醇，用后及时盖紧，以防乙醇挥发。
8. 向吸附柱内加入 600 ul Buffer GW2，室温 12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中废液。注意：Buffer GW2 为浓缩液，按要求加入无水乙醇，用后及时盖紧，以防乙醇挥发。
9. 向吸附柱内加入 500 ul Buffer GW2，室温 12,000 rpm 离心 2 min，弃收集管中废液。注意：此步不能省略，否则残留乙醇会影响基因组 DNA 的后续使用。
10. 将离心吸附柱置于一个新的 1.5 ml 塑料离心管（自备）中，加入 50 ~ 100 ul Buffer GE，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，离心管底溶液即基因组 DNA。
注意：为增加洗脱效率，可将洗脱液 Buffer GE 在 60℃预热。如需使用去离子水洗脱，可用 NaOH 调整其 pH 值在 7.0 - 8.5 之间，为了增加回收率，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，室温放置 2 min，再次离心收集。