

版本号: DP121221

TIANamp Bacteria DNA Kit

细菌基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP302

产品内容

产品组成	DP302-02 (50 preps)
缓冲液GA (Buffer GA)	15 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	15 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	13 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	15 ml
Proteinase K	1 ml
吸附柱CB3 (Spin Columns CB3)	50个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个

选配试剂

RNase A (100 mg/ml) (目录号: RT405-12); 溶菌酶

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8°C。2-8°C保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

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的基因组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。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

提取得率

材料	提取量	DNA得量
细菌培养液	10^6 - 10^8 cells	5-20 μ g

产品特点

简单快速：1 h内即可获得超纯的基因组DNA。

超 纯：获得的DNA纯度高，可直接用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
 2. 若缓冲液GA或GB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，并摇匀后使用。
 3. 所有的离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
-

操作步骤

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取细菌培养液1-5 ml，10,000 rpm(~11,500 × g)离心1 min，尽量吸净上清。
2. 向菌体沉淀中加入200 μl缓冲液GA，振荡至菌体彻底悬浮。

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180 μl缓冲液(20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton; 终浓度为20 mg/ml的溶菌酶(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。

如果需要去除RNA，可加入4 μl RNase A (100 mg/ml) 溶液 (客户自备，目录号：RT405-12)，振荡15 sec，室温放置5 min。

3. 向管中加入20 μl Proteinase K溶液，混匀。
4. 加入220 μl缓冲液GB，振荡15 sec，70 °C放置10 min，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

注意：加入缓冲液GB时可能会产生白色沉淀，一般70°C放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。

5. 加220 μl无水乙醇，充分振荡混匀15 sec，此时可能会出现絮状沉淀，简短离心以去除管盖内壁的水珠。
 6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱CB3中 (吸附柱放入收集管中)，12,000 rpm (~13,400 × g) 离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
 7. 向吸附柱CB3中加入500 μl缓冲液GD (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm (~13,400 × g) 离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
 8. 向吸附柱CB3中加入600 μl漂洗液PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm (~13,400 × g) 离心30 sec，倒掉废液，吸附柱CB3放入收集管中。
-

9. 重复操作步骤8。

10. 将吸附柱CB3放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 × g) 离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CB3置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

11. 将吸附柱CB3转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-200 μl洗脱缓冲液TE，室温放置2-5 min，12,000 rpm (~13,400 × g) 离心2 min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于50 μl，体积过小影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用ddH₂O做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱CB3中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 × g) 离心2 min。

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相当于大约50 μg/ml双链DNA、40 μg/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ddH₂O，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。
