



细菌基因组 DNA 提取试剂盒试用装

产品编号: NEP021-1

产品规格: 50T

产品简介:

本试剂盒采用自主研发的独特裂解液和酶相结合的方法裂解细菌, 具有效率高、速度快等特点。细菌被裂解经蛋白酶 K 消化后, DNA 被释放出来, 在高盐低 pH 的条件下, 硅基质膜特异性吸附 DNA, 在低盐高 pH 值条件下, 被吸附的 DNA 被洗脱下来。本试剂盒适用于各种细菌基因组 DNA 的提取。提取的基因组 DNA 可以直接用作 PCR 模板、酶切、杂交等分子生物学实验。

组成:

成分	50 次	注意事项
RNase A	0.5 ml	-20℃ 保存
Proteinase K	1 ml	-20℃ 保存
Lysis Buffer A	35 ml	
Lysis Buffer B	25 ml	
Wash buffer A	24 ml	用前加入 16 ml 无水乙醇, 充分混匀
Wash buffer B	16 ml	用前加入 64 ml 无水乙醇, 充分混匀
TE buffer	10 ml	
离心柱	50 个	单个最大吸附量 20 µg

实验前试剂准备

Wash buffer A 中加入 16 ml 无水乙醇, 充分混匀。

Wash buffer B 中加入 64 ml 无水乙醇, 充分混匀。

储存条件:

请按照上表中注意事项的条件保存, 其他未说明的可常温保存。

步骤:

1. 取菌液 0.6~3.0 ml (约 $1\sim5\times10^6$ 个细菌), 12,000 rpm 离心 1 min, 去上清。
2. 加入 600 µl Lysis Buffer A, 漩涡重悬, 加入 20 µl Proteinase K, 60 °C 水浴 45 min~1 h, 其间颠倒混匀数次。

如需消化 RNA, 可加入 10 µl RNase A, 混匀, 室温放置 10 min。

若加入细菌较多, 可适当延长水浴时间, 适量增加 Proteinase K 的量, 按比例增加 Lysis Buffer A 和 Lysis Buffer B 量。此步骤可以过夜处理。

3. 加入 400 µl Lysis Buffer B, 充分混匀。
4. 离心 10 min, 将上清倒入离心柱中, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。
5. 加入 700 µl Wash buffer A (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1min, 弃废液。



6. 加入 700 μ l Wash buffer B (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1min, 弃废液。
7. 加入 500 μ l Wash buffer B, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。
8. 再次 12,000 rpm 离心 2 min, 将离心柱置于新的离心管中, 并打开离心柱盖, 于室温或 37 $^{\circ}$ C 恒温箱放置 5~10 分钟直至无明显乙醇味。
9. 在硅基质膜中央加入 50~200 μ l TE buffer(事先预热 55~65 $^{\circ}$ C), 置于室温 2 min, 12,000 rpm 离 2 min。

纯化效果检测:

取 2-5 μ l 得到的 DNA 产物, 0.7% agarose 电泳检测 DNA 分子的完整性和紫外分光光度计检测浓度和纯度。

DNA 在 260nm 处有吸收峰, 检测时应该使 OD₂₆₀ 值在 0.1 到 1.0 之间数值较准确。OD₂₆₀ 为 1 时大概相当于 50 μ g/ml 双链 DNA, 40 μ g/ml 单链 DNA。

核酸浓度 (μ g/ml) = OD₂₆₀ × 50 × 稀释倍数。

OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的值应该为 1.7~2.0。

常见问题分析:

常见问题	可能原因	建议
柱子堵塞	裂解消化不充分	适当延长 Proteinase K 消化时间, 可过夜消化
	样品过多	样品量不要超过说明书所定最大量; 可适当增加 Proteinase K 的量
DNA 产量低	柱子堵塞	加大转速和延长离心时间
	Wash buffer A、Wash buffer B 没有加无水乙醇	按说明书加入无水乙醇
	洗脱效率低	洗脱液使用前于 55-65 $^{\circ}$ C 预热; 洗脱液 pH 值不合适, 应保证在 7.5~8.5
	样品裂解不完全	适当延长裂解时间, 可过夜消化
	样品不够新鲜	尽量使用新鲜样品
DNA 纯度低	消化不完全	样品量不要超过规定范围; 延长消化时间, 使样品充分消化
	洗涤不当	严格按照说明书步骤洗脱
	乙醇未除干净	适当延长晾干时间, 使乙醇充分挥发