

细菌基因组DNA快速抽提试剂盒

产品货号：26573

产品规格：50 preps/100 preps

产品简介：

本试剂盒无需使用苯酚、氯仿等有毒试剂。从1ml过夜培养的细菌菌液可以获得10~30μg DNA，OD₂₆₀/OD₂₈₀比值一般为1.7~1.9。抽提出的DNA可用于酶切、PCR、文库构建、Southern blot等相关实验。

产品组成：

产品名称	50 preps	100 preps	保存条件
试剂(A):Buffer Digestion	24ml	48ml	室温
试剂(B):Buffer PB	12ml	24ml	室温
试剂(C):TE Buffer (pH 8.0)	10ml	20ml	室温
试剂(D):Enzymatic lysis buffer	10ml	20ml	室温

自备材料：

水浴锅、小型高速离心机（最大离心力 $\geq 12,000 \times g$ ）、1.5ml离心管、75%乙醇、异丙醇、RNase A溶液、溶菌酶、蛋白酶K等。

标准抽提步骤：

Buffer Digestion在低温下可能产生沉淀，使用前请检查，如有沉淀，请于65℃溶解后使用。

提前将水浴锅调至65℃备用。

1. 样品处理

- 革兰氏阴性细菌：取1ml过夜培养的细菌菌液，加入1.5ml离心管中，室温8,000rpm离心1min，弃上清，收集菌体。加入400μl蛋白酶K溶液（使用前将相应的蛋白酶K加入到Buffer Digestion中，配置成20mg/ml的蛋白酶K溶液），震荡混匀。65℃水浴1h至细胞完全裂解。
 - 革兰氏阳性细菌：取1ml过夜培养的细菌菌液，加入1.5ml离心管中，室温8,000rpm离心1min，弃上清，收集菌体。加入180μl溶菌酶溶液（使用前将相应的溶菌酶加入到Enzymatic lysis buffer中，配置成20mg/ml的溶菌酶溶液）重悬菌液，37℃水浴30~60min，再加入400μl蛋白酶K溶液，震荡混匀。65℃水浴1h至细胞完全裂解。
- 水浴过程中，每10min颠倒混匀一次，可促进样品裂解。混合液变澄清透明为裂解完全。如溶液未变澄清，说明样品裂解不彻底，应适当延长水浴时间，否则将可能降低DNA的得率或导致提取的DNA不纯。
 - 如需得到无RNA的DNA，可在水浴后加入20μl的RNase A（10mg/ml），室温放置2~5min。
- 加入200μl Buffer PB，充分颠倒混匀，-20℃冰箱放置5min。
 - 室温10,000rpm离心5min，将上清液(500~550μl)转移到新的1.5ml离心管中。
 - 若上清液混浊，可再加入等体积氯仿混匀，12,000rpm离心取上清。
 - 加入等体积的异丙醇，颠倒5~8次使之充分混匀，室温放置2-3min。室温10,000rpm离心5min，弃上清。
 - 加入1ml 75%乙醇，颠倒漂洗1~3min，10,000rpm离心2min，弃上清。
 - 漂洗时一定要使沉淀悬浮起来。
 - 重复步骤5一次。
 - 开盖室温倒置5~10min至残留的乙醇完全挥发。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

- 此步绝不可省略，否则残余的乙醇会严重影响得率和后续实验。
- 如果残留的乙醇有挂壁现象，倒掉液体后再短暂离心，将残液用移液器吸出。然后开盖室温放置5~10min至残留的乙醇完全挥发。
- 8. 得到的DNA用50~100 μ l TE Buffer溶解。提取的DNA可立即进行下一步实验或-20 $^{\circ}$ C保存。
- TE Buffer为10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0。

保存方法及注意事项：

本试剂盒室温干燥保存，有效期12个月，4 $^{\circ}$ C保存时间更长。

Buffer Digestion中含有刺激性化合物，操作过程中应穿上实验服，戴好乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服，防止吸入口鼻。沾染皮肤或眼睛后，请立即用清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医生的帮助。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com