



北京沃凯生物科技有限公司  
全国免费电话:400-819-385  
www.bjoka-vip.com

Tel:010-62971590. Fax:62340519  
M-mail:postmaster@oka-vip.com

## 细菌基因组 DNA 提取试剂盒

货号: D16991

规格: 50T/100T

保存: RT, 有效期 1 年 (RNase A 以附件形式发货, -20°C 保存)。

### 产品组成:

| 试剂盒组成   | 50T                    | 100T                   | 保存    |
|---------|------------------------|------------------------|-------|
| RNase A | 100 $\mu$ L $\times$ 2 | 100 $\mu$ L $\times$ 4 | -20°C |
| 蛋白酶 K   | 1mL                    | 1mL $\times$ 2         | -20°C |
| 溶液 A    | 15mL                   | 30mL                   | RT    |
| 溶液 B    | 15mL                   | 30mL                   | RT    |
| 漂洗液     | 15mL                   | 15mL $\times$ 2        | RT    |
| 洗脱液     | 10mL                   | 20mL                   | RT    |
| 吸附柱     | 50 个                   | 100 个                  |       |
| 收集管     | 50 个                   | 100 个                  |       |
| 说明书     | 1 份                    | 1 份                    |       |

### 注意:

- 使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶体上的标签 (每瓶需要单独加入 45mL 无水乙醇)。
- 所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。
- 本试剂盒仅适用于革兰氏阴性菌和部分革兰氏阳性菌, 若用于革兰氏阳性菌基因组提取困难, 需自备部分试剂或者选购《D1650-革兰氏阳性菌基因组 DNA 提取试剂盒》。

### 产品介绍:

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。使用本试剂盒提取的基因组 DNA 可用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

### 操作步骤:

- 取细菌培养液 1-5mL, 12000rpm 离心 1min., 尽量吸除上清。
- 向菌体中加入 250 $\mu$ L 溶液 A, 振荡或用移液器吹打使菌体充分悬浮, 向悬浮液中加入 4 $\mu$ L 的 RNase A, 振荡 15s, 室温放置 5min。

#### 【注】

如果是革兰氏阳性菌, 可在第 2 步操作前加入溶菌酶溶液进行破壁处理, 溶菌酶需自备, 具体方法为: 向菌体加入 500 $\mu$ L 70%乙醇, 冰浴 20min, 12000rpm 离心 1min, 弃上清, 菌体沉淀加入 70 $\mu$ L 溶菌酶溶液 (50-100mg/mL), 37°C 处理 30-60min。

- 向管中加入 20 $\mu$ L 的蛋白酶 K (10mg/mL), 充分混匀, 70°C 放置 10min, 此时可见菌液呈清亮粘稠状。
- 向管中加入 220 $\mu$ L 溶液 B, 振荡 15s, 70°C 放置 10min, 瞬时离心以去除管盖内壁的水珠。
- 向管中加入 220 $\mu$ L 无水乙醇, 充分混匀, 振荡 15s, 溶液变清亮, 此时还可能会出现絮状沉淀, 不影



北京沃凯生物科技有限公司  
全国免费电话:400-819-385  
www.bjoka-vip.com

Tel:010-62971590. Fax:62340519  
M-mail:postmaster@oka-vip.com

响 DNA 的提取，可将溶液和絮状沉淀都加入到吸附柱中，静置 2min。

6. 12000rpm 离心 2min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
7. 向吸附柱中加入 600 $\mu$ L 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)。12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
8. 向吸附柱中加入 600 $\mu$ L 漂洗液。12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
9. 12000rpm 离心 2min，将吸附柱敞口置于室温或 50 $^{\circ}$ C 温箱放置数分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，否则漂洗液中的乙醇会影响后续实验，如酶切、PCR 等。
10. 将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加 50-200 $\mu$ L 经 65 $^{\circ}$ C 水浴预热的洗脱液，室温放置 5min，12000rpm 离心 1min。
11. 离心所得洗脱液再加入吸附柱中，室温放置 2min，12000rpm 离心 2min，即可得到高质量的细菌基因组 DNA。

#### 注意事项：

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
2. 若试剂盒中的溶液出现沉淀，可在 65 $^{\circ}$ C 水浴中重新溶解后再使用，不影响提取效果。
3. 如果实验中的离心步骤出现柱子堵塞的情况，可适当延长离心时间。
4. 洗脱缓冲液的体积最好不少于 50 $\mu$ L，体积过小会影响回收效率；洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响，若需要用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右（可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围），pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。DNA 产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防 DNA 降解。
5. 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 1.0 相当于大约 50 $\mu$ g/mL 双链 DNA、40 $\mu$ g/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，而使用去离子水，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。

