

细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书

货号: RD3350102

【产品名称】

通用名: 细菌基因组 DNA 提取试剂盒

【型号规格】

50 人份/盒

【预期用途】

用于细菌基因组 DNA 核酸的提取。提取的 DNA 可用于各种常规操作。

【检验原理】

本试剂盒采用特异性结合 DNA 的离心吸附柱结合 DNA, 通过漂洗流程, 去除非 DNA 类物质的污染, 利用特异的缓冲液系统提取细菌基因组 DNA。得到的基因组 DNA 片段大、纯度高、质量稳定可靠。

【主要组成成分】

| 组分名称 | 规格 | 数量 |
|-----------|---------|-----|
| 缓冲液 GA | 15 mL/瓶 | 1 瓶 |
| 缓冲液 GB | 15 mL/瓶 | 1 瓶 |
| 漂洗液 GD | 13 mL/瓶 | 1 瓶 |
| 漂洗液 PW | 15 mL/瓶 | 1 瓶 |
| 蛋白酶 K | 1 mL/管 | 1 管 |
| TE 洗脱缓冲液 | 15 mL/瓶 | 1 瓶 |
| 吸附柱 CB3 | 50 个/包 | 1 包 |
| 收集管 (2ml) | 50 个/包 | 1 包 |

【提取得率】

| 材料 | 提取量 | DNA 得量 |
|-------|------------------------|--------|
| 细菌培养液 | $10^6 \sim 10^8$ cells | 5~20ng |

【储存条件及有效期】

本试剂盒所有组分在室温干燥条件下，可保存 12 个月；

【操作步骤】

使用前请先在漂洗液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1-5ml，10000rpm (~11500×g) 离心1min，尽量吸净上清。
2. 向菌体沉淀中加入200μl缓冲液GA，震荡至菌体彻底悬浮。

注意：对于较难破壁的革兰氏阳性菌，可略过第 2 步骤，加入溶菌酶溶液进行破壁处理，具体方法为：加入 110 μL 缓冲液（20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton），和 70μL 溶菌酶溶液（50 mg/ml，客户自备），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），振荡 15 sec，室温放置 5min.

3. 向管中加入20 μL蛋白酶K溶液，混匀。
4. 加入220 μL缓冲液GB，振荡15秒，70 °C放置10分钟，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 秒，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吸附柱 CB3（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm(~13,400×g)离心 30 秒，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 漂洗液 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 秒，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 秒，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 分钟，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（自备）中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-200 μL TE 洗脱缓冲液，室温放置 2-5 分钟，12000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟，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 $^{\circ}\text{C}$ ，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 分钟，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟。

【注意事项】

1. 本产品为体外诊断试剂，仅供体外诊断且为一次性产品。
2. 使用前请仔细阅读说明书，严格按说明书进行操作，超过有效期禁止使用。
3. 若缓冲液 GA 或 GB 中有沉淀，可在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中重新溶解，并摇匀后使用。
4. 所有的离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
5. 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。
6. 实验过程产生的废液、废物请按医疗垃圾处理程序进行处理。

【基本信息】

备案人/生产企业名称：瑞因迈拓科技（广州）有限公司

住所/生产地址：广州市黄埔区开源大道 188 号七栋 102 房

联系方式：400-801-3391

售后服务单位名称：瑞因迈拓科技（广州）有限公司