

# 细菌基因组 DNA 快速提取试剂盒

BMamp Rapid Bacteria DNA Kit

## 产品信息:

试剂盒组成	保存	DL111-01 100 次
RNaseA (10mg/ml)	室温	300 $\mu$ l
溶菌酶	室温	0.4g
缓冲液 TB	室温	20ml
裂解液 TL	室温	20ml
结合液 CB	室温	22ml
抑制物去除液 IR	室温	50ml
漂洗液 WB	室温	25ml 第一次使用前加入 100ml 无水乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml
蛋白酶 K (20mg/ml)	室温	1ml $\times$ 2
吸附柱 AC	室温	100 个
收集管 (2ml)	室温	100 个

## 储存条件:

该试剂盒置于室温 (15-25 $^{\circ}$ C) 干燥条件下, 可保存 12 个月, 更长时间的保存可置于 2-8 $^{\circ}$ C。2-8 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 水浴中预热 10min, 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 $\mu$ g

### 产品特点：

简单快速：1 小时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. 若裂解液 TL 或结合液 CB 中有沉淀，可在 37℃ 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：

使用前请先在漂洗液 WB 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，10,000rpm (~11,500 $\times$ g) 离心 1min，尽量吸净上清。
2. 向菌体沉淀中加入 200 $\mu$ l 裂解液 TL，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 $\mu$ l 缓冲液 TB+溶菌酶(终浓度为 20mg/ml 的溶菌酶(溶菌酶必须用溶菌酶干粉溶解在缓冲液 TB 中进行配制，否则会导致溶菌酶无活性)，37℃ 处理 30min 以上。如果需要去除 RNA，可加入 3 $\mu$ l RNase A (10mg/ml) 溶液，振荡 15sec，室温放置 5min。

3. 向管中加入 20 $\mu$ l 蛋白酶 K 溶液，混匀。
4. 加入 220 $\mu$ l 结合液 CB，振荡 15sec，70℃ 放置 10min，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

**注意：**加入结合液 CB 时可能会产生白色沉淀，一般 70℃ 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 $\mu$ l 无水乙醇，充分振荡混匀 15sec，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 AC 中（吸附柱放入收集管中），12,000rpm 离心 30sec，倒掉废液，将吸附柱 AC 放入收集管中。

7.向吸附柱 AC 中加入 500 $\mu$ l 抑制物去除液 IR，12,000rpm 离心 30sec，倒掉废液，将吸附柱 AC 放入收集管中。

8.向吸附柱 AC 中加入 600 $\mu$ l 漂洗液 WB（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 30sec，倒掉废液，吸附柱 AC 放入收集管中。

9.重复操作步骤 8。

10.将吸附柱 AC 放回收集管中，12,000rpm 离心 2min，倒掉废液。将吸附柱 AC 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 AC 转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-100 $\mu$ l 洗脱缓冲液 EB，室温放置 2-5min，12,000 rpm 离心 2min，将溶液收集到离心管中。

**注意：洗脱缓冲液体积不应少于 50 $\mu$ l，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 ddH<sub>2</sub>O 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 $^{\circ}$ 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 AC 中，室温放置 2min，12,000rpm 离心 2min。**

### 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 OD<sub>260</sub> 处有显著吸收峰，OD<sub>260</sub> 值为 1 相当于大约 50 $\mu$ g/ml 双链 DNA、40 $\mu$ g/ml 单链 DNA。OD<sub>260</sub> /OD<sub>280</sub> 比值应为 1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用 ddH<sub>2</sub>O，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。