

O n e s t e p - L y s i s TM B a c t e r i a D N A K i t

快捷型细菌 D N A 提取试剂盒

目录号：A O 3 1 1 6

试剂盒组成

Component	A O 3 1 1 6 (5 0 T)	A O 3 1 1 6 (1 0 0 T)
B u f f e r L B	2 5 m l	5 0 m l
B u f f e r W B 1	2 5 m l	5 0 m l
B u f f e r W B 2 (c o n c e n t r a t e)	1 3 m l	2 5 m l
B u f f e r W B 2 (c o n c e n t r a t e)	(使用前按瓶上标签加入无水乙醇)	(使用前按瓶上标签加入无水乙醇)
B u f f e r E B	1 5 m l	3 0 m l
R N a s e A (1 0 m g / m l)	2 0 0 μ l	4 0 0 μ l
S p i n C o l u m n s A C w i t h C o l l e c t i o n T u b e s	5 0	1 0 0

保存方法

室温（1 5 - 3 0 °C）保存。

产品介绍

本试剂盒采用特异性吸附 D N A 的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，可以从细菌中提取高质量 D N A。独特配方的裂解液可以去除杂质蛋白以及细胞中其他有机化合物，提取的基因组 D N A 纯度高、片段大、质量稳定可靠。

操作步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

自备无水乙醇、溶菌酶（用于革兰氏阳性菌）。

第一次使用 B u f f e r W B 2 前按照试剂瓶标签的说明加入无水乙醇。

取 0 . 5 - 2 m l 细菌培养液（最多不超过 2×10^9 个细胞），1 0 , 0 0 0 r p m (~ 1 1 , 5 0 0 \times g) 离心 1 m i n ，尽可能的吸弃上清，收集细菌沉淀。

注意：起始处理量可以根据细菌密度、种类、预期产量进行调整。

革兰氏阴性菌：向菌体沉淀中加入 4 5 0 μ l B u f f e r L B ，涡旋振荡 1 m i n 裂解菌体（不要有菌体团块），室温放置 1 0 m i n ，进行操作步骤 3。

革兰氏阳性菌：先进行溶菌酶破壁处理（如不确定为何种菌属，请按处理革兰氏阳性菌的方法进行）。向菌体沉淀中加入 200 μ l 溶菌酶缓冲液（20 mg/ml），吸打重悬菌体，37℃温育 30 - 60 min，12,000 rpm（ $\sim 13,400\times g$ ）离心 2 min，吸弃上清。向菌体沉淀中加入 450 μ l Buffer LB，涡旋振荡混匀（不要有团块），室温放置 10 min，下接操作步骤 3。

注意：1）* 溶菌酶干粉用 Buffer EB 溶解，配制成 20 mg/ml；或者菌体直接用 200 μ l Buffer EB 重悬后，用枪头挑取少许溶菌酶加入。

2）对于大部分的革兰氏阳性菌，使用溶菌酶可以有效裂解，但对于金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌等葡萄球菌破壁时，还应加入少量的溶葡萄球菌酶帮助破壁。

可选步骤：如果需要去除 RNA，可加入 4 μ l RNase A（10 mg/ml）溶液，涡旋混匀，室温放置 5 min。

加入 230 μ l 无水乙醇，颠倒混匀（可能会出现沉淀），将得到的溶液和可能产生的沉淀一起转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns AC），12,000 rpm 离心 1 min，弃废液。

向吸附柱 AC 中加入 500 μ l Buffer WB1，12,000 rpm 离心 30 sec，倒弃废液。

向吸附柱 AC 中加入 600 μ l Buffer WB2（使用前请确认是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 30 sec，倒弃废液。

重复步骤 6。

将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，弃掉收集管和废液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会降低洗脱效率，影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，可以将吸附柱开盖放置几分钟，以彻底晾干残余乙醇。

将吸附柱 AC 放入新的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 50 - 100 μ l Buffer EB，室温放置 3 - 5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集 DNA 溶液。 - 20℃ 保存 DNA。

注意：如果要提高 DNA 的终浓度，可以使用小于 100 μ l EB 洗脱，也可以将步骤 9 所得的 DNA 溶液重新加至吸附膜上，再次离心洗脱。如果预期 DNA 的量小于 1 μ g，推荐用 50 μ l Buffer EB 进行洗脱。