

SteadyPure 细菌基因组DNA提取试剂盒

Code No. AG21007

SteadyPure Bacterial Genomic DNA Extraction Kit

包装量: 50 rxns
保存温度: Package 2-1 -20°C
Package 2-2 RT (15-25°C)

> 产品概述

SteadyPure 细菌基因组 DNA 提取试剂盒旨在给客户提供一种快速、简单、经济实惠的小量菌体基因组 DNA 的提取方法。经本试剂盒提取所得的 DNA 溶解于水或者 Tris 缓冲液中，可直接用于PCR扩增、DNA 序列分析等。

> 安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请佩戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

注意：使用后溶液需要收集在废液桶中专门处理。

如果缓冲液不小心溅出，请立刻用大量清水冲洗，然后用浓度为1%的次氯酸钠溶液清洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

> 产品组成

Proteinase K (20 mg/ml) *1	1 ml
Lysozyme (20 mg/ml) *1	1.25 ml X 2
RNase A (10 mg/ml) *1	500 μl
Buffer BP	25 ml
Buffer LS-2	9 ml
Buffer BS-2	10 ml
Buffer WA	25 ml
Buffer WB *2	27 ml
Elution Buffer	20 ml
Bacterial DNA Mini Columns	50 套
Collection tubes	50 支

*1 此三种组分包装于Package 2-1 中，需放置于 -20°C 保存；其余组分均包装于Package 2-2 中，室温(15-25°C) 保存。

*2 Buffer WB 在首次使用前，请添加 63 ml 的 100% 乙醇（使得 Buffer WB: 无水乙醇=3:7），混合均匀后在瓶子上做好标记。

> 实验前准备

- 1) 无水乙醇、灭菌水、1.5 ml 离心管、水浴。
- 3) Buffer LS-2 若出现沉淀，请于50-60°C加热溶解，待溶液恢复至室温后使用。
- 4) 洗脱结合于 DNA 制备膜上的基因组 DNA 时，将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50-65°C使用，将会提高 DNA 的洗脱效率。

> 保存及运输

保存温度: Package 2-1 -20°C 保存；其中 Lysozyme (20 mg/ml) 融化后请于 4°C长期保存。

Package 2-2 室温 (15-25°C) 保存（温度较低时有的组分会出现沉淀，使用前可 37°C 加热至沉淀消失，然后使用）

运输温度: Package 2-1 使用干冰或-20°C冰袋运输；

Package 2-2 于室温运输。

► **注意事项**

- 1) 为了从样本材料中获得最佳 DNA 产量, 离心后的菌饼一定要充分悬浮, 然后再加入裂解液进行处理并确保裂解充分。
- 2) 此说明书细菌 DNA 提取方法中菌体样本量及试剂用量已经过优化, 能满足大多数实验要求。如果提取效果不佳, 可对试剂用量进行适当的调整 (例如样本量过多, 可适当提高相应试剂的用量, 或使用多个 Mini Column 进行 DNA 吸附)。

► **操作流程**

Gram-negative Bacteria 的裂解

- ◆ 12,000 rpm 离心 2 分钟收集 $1.0 \sim 5.0 \times 10^9$ 的细菌, 弃上清 (细胞培养液)。
- ◆ 加入 180 μ l 的 Buffer LS-2 裂解细菌, 然后加入 20 μ l 的 Proteinase K (20 mg/ml) 和 10 μ l 的 RNase A (10 mg/ml) 充分振荡混匀, 于 56°C 水浴温育 10 分钟至溶液变的透明。
- ◆ 加入 200 μ l 的 Buffer BS-2 和 200 μ l 的 100% 乙醇, 充分吸打混匀。



180 μ l Buffer LS-2
20 μ l Proteinase K
10 μ l RNase A
56°C 水浴 10 min
200 μ l Buffer BS-2
200 μ l 100% 乙醇

Gram-positive Bacteria 的裂解

- ◆ 12,000 rpm 离心 2 分钟收集 $0.5 \sim 2.0 \times 10^9$ 的细胞, 弃上清 (细胞培养液)。
- ◆ 加入 500 μ l 的 Buffer BP 重悬细胞、加入 50 μ l 的 Lysozyme (20 mg/ml), 充分混匀, 于 37°C 水浴温育 60 分钟 (温育期间可每隔 10 分钟颠倒混匀一次)。
- ◆ 室温下 12,000 rpm 离心 5 分钟, 弃上清。
- ◆ 加入 180 μ l 的 Buffer LS-2, 然后加入 20 μ l 的 Proteinase K (20 mg/ml) 和 10 μ l 的 RNase A (10 mg/ml) 充分振荡或吹打混匀, 56°C 水浴温育 10 分钟至溶液变成透明状。(如果此时溶液未透明澄清, 可继续裂解 30 分钟, 并每隔 5 分钟振荡或吹打混匀一次)。
- ◆ 向溶液中分别加入 200 μ l 的 Buffer BS-2、200 μ l 的 100% 乙醇, 充分混匀。



离心、去上清
500 μ l Buffer BP
50 μ l Lysozyme
37°C 水浴 60 min
180 μ l Buffer LS-2
20 μ l Proteinase K
10 μ l RNase A
56°C 水浴 10-30 min
200 μ l Buffer BS-2
200 μ l 100% 乙醇

- 1) 将上述溶液转移至 Bacterial DNA Mini Column 中, 室温静置 1 min 后, 室温下 12,000 rpm 离心 1 分钟, 弃滤液。



离心、弃滤液

- 2) 向 Mini Column 中加入 500 μ l 的 Buffer WA, 室温 12,000rpm 离心 1 分钟, 弃滤液。
- 3) 向 Mini Column 中加入 750 μ l 的 Buffer WB, 室温 12,000rpm 离心 1 分钟, 弃滤液。
(注: 请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的 100% 乙醇。)
- 4) 重复步骤 3) 一次。
- 5) 将 Mini Column 安置于新的 2 ml Collection Tube 上, 室温 12,000 rpm 离心 2 分钟。



500 μ l Buffer WA 洗一次
750 μ l Buffer WB 洗两次

- 6) 将 Mini Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管上, 在 Mini Column 膜的中央处加入 50 μ l Elution Buffer 或灭菌水, 室温静置 1 分钟。

(注: 将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50-65°C 使用时有利于提高洗脱效率。)

- 7) 室温 12,000 rpm 离心 2 分钟洗脱 DNA。(如需要获得更大收量, 可将离下液重新加入到 Mini Column 膜的中央, 室温静置 2 分钟后, 12,000 rpm 离心 2 分钟洗脱 DNA。)



加入 50 μ l 洗脱液、离心