

天
净
沙
系
列

CAT#:220153-50
常温运输及保存

BINGENE

细菌 DNA 纯化试剂盒（过柱法）

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	本产品可以用于绝大多数革氏阳性和阴性细菌基因组 DNA 的快速提取。 1. 操作简单，整个过程不到 20 分钟。 2. 产率一般在 5-20 ug/mL 过液培养的饱和菌液（10⁸-10⁹ 个细胞）。 3. OD260/280 一般在 1.8 以上，可直接用于 PCR、酶切、杂交等实验。 4. DNA 片段长度一般在 40-50 Kb 左右。 5. 每次提取可以处理 0.1-1.5 mL 的细菌，也可以使用菌落。 6. 价廉物美，与国外同类产品相比质量相当，但价格便宜。 7. 安全无毒，本试剂盒对人体无害，无腐蚀性和刺激性气味。 8. 本产品只能用于科研。																																				
规格及成分	本产品使用大扁盒包装 <table><tr><th>成 份</th><th>编 号</th><th>规 格</th><th>包装材料</th></tr><tr><td>溶菌酶干粉</td><td>210808</td><td>600 mg</td><td>1.5mL 白色管</td></tr><tr><td>细菌 DNA 纯化溶液 A</td><td>220153A</td><td>15 mL</td><td>15mL 本色瓶</td></tr><tr><td>细菌 DNA 纯化溶液 B</td><td>220153B</td><td>7.5 mL</td><td>10mL 本色瓶</td></tr><tr><td>细菌 DNA 纯化溶液 C</td><td>220153C</td><td>30 mL</td><td>30mL 本色瓶</td></tr><tr><td>离心吸附柱</td><td>220144</td><td>50 套</td><td>塑料袋</td></tr><tr><td>通用洗柱液</td><td>220143</td><td>50 mL</td><td>60mL 本色瓶</td></tr><tr><td>DNA 洗脱液（基因组纯化专用）</td><td>220125</td><td>10 mL</td><td>10mL 本色瓶</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>220153sc</td><td>1 份</td><td>无</td></tr></table>	成 份	编 号	规 格	包装材料	溶菌酶干粉	210808	600 mg	1.5mL 白色管	细菌 DNA 纯化溶液 A	220153A	15 mL	15mL 本色瓶	细菌 DNA 纯化溶液 B	220153B	7.5 mL	10mL 本色瓶	细菌 DNA 纯化溶液 C	220153C	30 mL	30mL 本色瓶	离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋	通用洗柱液	220143	50 mL	60mL 本色瓶	DNA 洗脱液（基因组纯化专用）	220125	10 mL	10mL 本色瓶	使用手册	220153sc	1 份	无
成 份	编 号	规 格	包装材料																																		
溶菌酶干粉	210808	600 mg	1.5mL 白色管																																		
细菌 DNA 纯化溶液 A	220153A	15 mL	15mL 本色瓶																																		
细菌 DNA 纯化溶液 B	220153B	7.5 mL	10mL 本色瓶																																		
细菌 DNA 纯化溶液 C	220153C	30 mL	30mL 本色瓶																																		
离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋																																		
通用洗柱液	220143	50 mL	60mL 本色瓶																																		
DNA 洗脱液（基因组纯化专用）	220125	10 mL	10mL 本色瓶																																		
使用手册	220153sc	1 份	无																																		
运输及保存	常温运输及保存（溶菌酶干粉可以常温运输，但长期保存需要放 4℃或-20℃），有效期一年。																																				
自备试剂	氯仿、自备无菌水。																																				
使用方法	注意：细菌 DNA 纯化溶液 A 和细菌 DNA 纯化溶液 B 容易产生沉淀，细菌 DNA 纯化溶液 B 十分粘稠，均需要放置在 65℃预热使沉淀溶解、粘稠度降低，用前充分摇匀。 一：对革氏阴性细菌样品， 不需用溶菌酶 1. 将 0.1-1.5 mL 过夜培养的菌液转移到 1.5 mL 塑料离心管中， 12,000 rpm 室温离心 1 分钟沉淀细菌，弃上清。 2. 加入 300 uL 预热的溶细菌 DNA 纯化液 A 到细菌沉淀中，充分吹打均匀。 3. 再加入 150 uL 预热的细菌 DNA 纯化溶液 B 到离心管中，颠倒数次混匀。此时溶液中可能有白色丝状悬浮物产生。由于溶液 B 比较粘稠，可以采取称量方																																				

法取用，150 uL 约等于 150-160 mg。也可以将 1 mL 枪头剪去一截再吸取。

4. 65℃放置 3-5 分钟。如果室温放置，DNA 产量会降低 10-20%。
5. 加入 200 uL 自备氯仿，震荡混匀 10-30 秒，此时溶液将呈乳白色。
6. 12,000 rpm 室温离心 2 分钟。此时上清液将变得透明，中间层有白膜。小心转移上清液到一个新的 1.5 mL 塑料离心管中，避免触及中间层的白膜。
7. 加入 1.5 倍体积(约 0.7 mL)的细菌 DNA 纯化溶液 C，颠倒混匀后全部转移到离心吸附柱中，室温放置至少 2 分钟。
8. 12,000 rpm 室温离心 1 分钟，DNA 将吸附在离心吸附柱的膜上，倒弃收集管中的穿透液。
9. 将 0.5 mL 通用洗柱液加入离心柱中，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃穿透液。
10. 重复上步操作一次。
11. 空甩半分钟去除残留液体,将离心吸附柱转移到新的 1.5 mL 离心管中。
12. 加 50-100 uL DNA 洗脱液（基因组纯化专用），室温放置 3-5 分钟。
13. 12,000 rpm 室温离心 1 分钟即得 DNA 溶液。
14. 由于本产品使用的离心吸附柱吸附 DNA 的能力较强，可以重复上步操作一次以便得到更多的 DNA。
15. 直接取 5-10 uL 电泳检测 DNA，其余放冰箱备用。

二：对革氏阳性细菌样品，需用溶菌酶

1. 将 0.1-1.5 mL 过夜培养的革氏阳性细菌 12,000 rpm 室温离心 1 分钟后，重悬于 0.6 mL 溶菌液中（溶菌液配制:30 mL 无菌水+600 mg 溶菌酶，配制后最好分装成小管并放-20℃长期保存，每次只用一小管），颠倒混匀 5-10 次后放 37℃保温至少 30 分钟(有的革氏阳性菌种可能需更长时间，需要自己根据不同的细菌摸索)。
2. 12,000 rpm 室温离心 10 分钟，小心弃上清。
3. 后续处理接上面的革氏阴性细菌提取步骤中的第 2 步。

三：其他注意事项

1. 可以直接使用细菌菌落提取 DNA，操作时直接将细菌菌落挑入到细菌 DNA 纯

	化溶液 A 中，后续操作同上。 2. 从单个菌落中提取到的 DNA 较少，所以只用 30 uL DNA 洗脱液（基因组纯化专用）洗脱。
关联产品	真菌 DN 纯化试剂盒