天净沙系列

CAT#:220142

常温运输及保存，有低温成分

天净沙

分枝杆菌 DNA 纯化试剂盒（过柱法）

Mycobacterium DNA Purification Kit

使用手册 V1.01

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

分枝杆菌属（*Mycobacterium*）是一类极为古老的革兰氏阳性细菌属，它具有不同于别的细菌的细胞壁结构，其靠近细胞膜的部分是其他革兰氏阳性细菌都具有的肽聚糖层，该层通过磷酸二酯键与分枝酸-阿拉伯半乳糖-肽聚糖复合层共价连接。分枝酸是含 70～90 个碳原子的枝链脂肪酸，位于 MAPc 的外层，分枝杆菌因此而得名。MAPc 层之外为糖化脂质层 (glycolipid)，它与分枝酸相连，成分主要是磷脂，占细胞壁干重的比例高达 60%，所以分枝杆菌疏水性很强，不能使用革兰氏染色。分枝杆菌细胞壁还含有贯穿整个细胞壁的脂阿拉伯糖甘露聚糖，它是一种含阿拉伯糖和甘露糖的磷酸化的、不均一混合物，其末段所连接的成分的不同与细菌对巨噬细胞反应的不同密切相关。分枝杆菌细胞壁的上述特点使得用常规方法纯化其 DNA 非常困难。本产品就是为解决这一问题而开发的产品，它具有下列特点:

1. 操作简单，客户不需要准备额外的试剂。
2. 适用于整个分枝杆菌属。
3. 获得的基因组 DNA 足够进行后续的核酸扩增或酶切处理。PCR 检测灵敏度一般在 10-100 CFU/mL 样品。
4. 既可以使用培养的分枝杆菌，也可以使用从痰液、精液、血液、脑脊液等样品中分离的分枝杆菌。
5. 安全无毒，本试剂盒对人体无害，无腐蚀性和刺激性气味。
6. 本产品足够 50 次分枝杆菌 DNA 的纯化实验。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大纸盒包装

成份	编号	规格	包装
分枝杆菌 DNA 纯化溶液 A	220142a	7.5 mL	10 mL 本色瓶
分枝杆菌 DNA 纯化溶液 B	220142b	15 mL	15 mL 棕玻瓶
分枝杆菌 DNA 提取溶液 C	220142c	30 mL	30 mL 本色瓶
化痰液成分（干粉）	220142d	5 g	10 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL 本色瓶
DNA 洗脱液（基因组纯化专用）	220125	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	220142sc	1 份	1 份

运输及保存

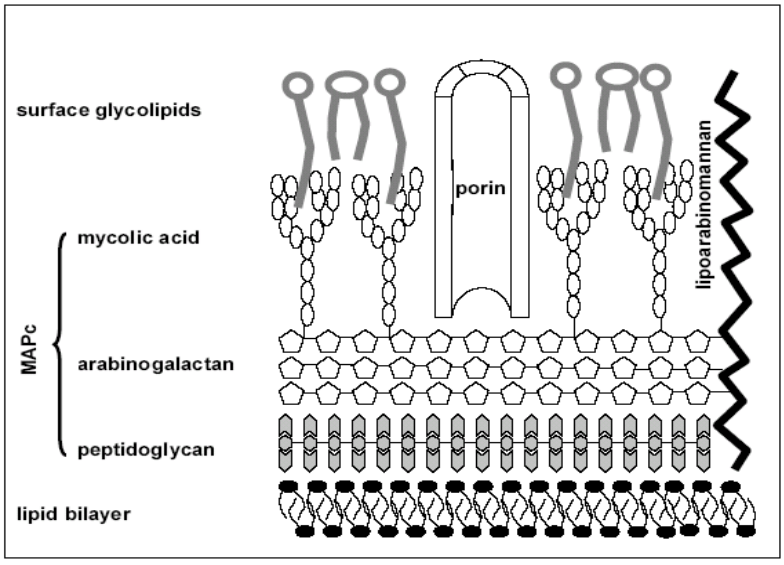
常温运输，但化痰液成分（干粉）和分枝杆菌 DNA 纯化溶液 B 需要 4℃保存，有效期一年。

自备试剂	TE 缓冲液，氯仿。
使用方法	**注意：**文献报道部分分枝杆菌在 DNA 提取过程中还有形成菌落的能力，所以任何丢弃的溶液都必须按有传染性的污染物品对待，并严格按有关要求进行消毒处理。 **一：培养的分枝杆菌样品的预处理** 1. 刮取培养皿培养的分枝杆菌到 0.5 mL 自备 TE 缓冲液中。 2. 80℃放置 20 分钟以杀灭分枝杆菌。 3. 3,000×g 室温离心 15 分钟，弃上清。 4. 将分枝杆菌沉淀放-20℃冰箱备用或直接进入到第四步的分枝杆菌基因组 DNA 提取步骤。 **二：含分枝杆菌的痰液样品的预处理** 1. 将痰液样品（0.5 mL-2 mL）加入到干净的 10 mL 或 15 mL 塑料离心管中。 2. 加 2 mL 的自备蒸馏水，再加入 100 mg 化痰液干粉，充分混合均匀后室温放置 15-30 分钟。如果痰很浓，可以延长保温时间 30 分钟。 3. 80℃放置 20 分钟以杀灭分枝杆菌。 4. 3,000×g 室温离心 15 分钟，弃上清。 5. 将分枝杆菌沉淀放-20℃冰箱备用或直接进入到第四步的分枝杆菌基因组 DNA 提取步骤。 **三：含分枝杆菌的血液样品的预处理** 1. 用自备红细胞裂解液对血液进行红细胞裂解处理（可另购本公司红细胞裂解液产品）。 2. 将得到的白细胞沉淀放-20℃或更低温度放置 10 分钟。 3. 迅速将得到的白细胞沉淀 100℃加热 10 分钟以破裂细胞并杀灭分枝杆菌。 4. 上述处理将使大部分白细胞破裂，加入自备的 TE 到离心管体积的一半位置。此步使白细胞的 DNA 进入缓冲液中。 5. 离心 5-10 分钟沉淀分枝杆菌，离心速度取决于离心管的大小。如果样品在 1.5 mL 离心管，则可以 12,000-15,000×g 室温离心。如果样品在 10-15 mL 离心管，则 3,000-5,000×g 室温离心。 6. 吸弃上清（含白细胞 DNA），将所得分枝杆菌沉淀放-20℃冰箱备用或直接进入到第四步的分枝杆菌基因组 DNA 提取步骤。 **四：分枝杆菌基因组 DNA 的提取** 1. 将 150 μL 65℃预热过的分枝杆菌 DNA 纯化溶液 A 加到有分枝杆菌沉淀的螺旋盖离心管中，充分震荡混匀。

2. 将混合物转移到一个干净的 1.5 mL 塑料螺旋盖离心管中。强烈建议不要使用压盖式塑料离心管，否则后面处理过程溶液容易漏出。
3. 加入 300 μL 分枝杆菌 DNA 纯化溶液 B 和 300 μL 自备氯仿，充分震荡混匀。
4. -20℃放置直到液体凝固，一般需要 30 分钟。过夜放置也可。也可以-80℃放置 10 分钟直到液体凝固。
5. 放室温融化后振荡半分钟。
6. 12,000-15,000×g 室温离心 3-5 分钟，小心转移全部上清到一个新离心管中。
7. 加入等体积的分枝杆菌 DNA 纯化溶液 C，颠倒混匀。
8. 将液体转移到离心吸附柱中，室温放置 2 分钟。
9. 12,000-15,000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。
10. 加入 0.5 mL 通用洗柱液 12,000-15,000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。
11. 重复上步的洗涤过程一次。
12. 短暂离心半分钟。此步不要省略，否则残留的洗柱液（含乙醇）将会影响 DNA 电泳、酶切和 PCR 等反应。
13. 将离心吸附柱转移到一新的离心管中，加入 50 μL DNA 洗脱液（基因组纯化专用），12,000-15,000×g 室温离心半分钟，所得溶液即分枝杆菌基因组 DNA。
14. 直接取 5-10 μL 电泳检测 DNA，其余放冰箱备用或用于后续反应。

背景资料

分枝杆菌细胞壁结构图



关联产品

细菌 DNA 纯化试剂盒