天净沙系列

CAT#:220153

常温运输及保存

细菌 DNA 纯化试剂盒（过柱法）

Bacterial DNA Purification Kit

使用手册 V1.03

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

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。本产品特点如下：

1. 操作简单，整个过程不到 20 分钟。
2. 产率一般在 5-20 μg/mL 过液培养的饱和菌液（1E8-1E9 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

成 份	编号	规格	包装材料
溶菌酶干粉	CAS:12650-88-3	600 mg	1.5 mL 白盖管
DNA 纯化溶液 A	220153a	15 mL	15 mL 本色瓶
DNA 纯化溶液 B	220153b	7.5 mL	10 mL 本色瓶
DNA 纯化溶液 C	220153c	30 mL	30 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	50 套	热封袋
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	220153sc	1 份	1 份

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

氯仿或氯仿替代品、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×g 室温离心 1 分钟沉淀细菌，弃上清。
2. 加入 300 μL 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 μL 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 μ

	L 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 μL 自备氯仿或氯仿替代品，震荡混匀 10-30 秒，此时溶液将呈乳白色。 6. 12,000×g 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 12,000×g 室温离心 1 分钟，取上清转移到离心吸附柱中，室温放置至少 2 分钟。 8. 12,000×g 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×g 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 μL DNA 洗脱液（基因组纯化专用），室温放置 3-5 分钟。 13. 12,000×g 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 μL 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×g 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×g 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 μL DNA 洗脱液（基因组纯化专用）洗脱。
关联产品	真菌 DNA 纯化试剂盒