

M5 Bacteria Genomic DNA Kit

细菌基因组提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Bacteria Genomic DNA Kit	50T	MF111-01
M5 Bacteria Genomic DNA Kit	200T	MF111-04

【储存条件】 蛋白酶 K 于-20℃，其他组分室温（15 ~ 25℃）。

【产品简介】

本试剂盒适用于从细菌中制备高质量的基因组 DNA。优化的缓冲液体系能迅速裂解细菌和灭活细胞内核酸酶，然后基因组 DNA 在高盐状态下选择性吸附于硅基质膜上，再通过快速的漂洗、离心步骤，去除细菌代谢物和蛋白等，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱下来。使用本试剂盒可从过夜培养的细菌培养液中快速提取高纯度的基因组 DNA，可直接进行 PCR、酶切和杂交等相关分子生物学实验。

【产品特点】

1. 简便快速：1 小时内可获得高纯度的基因组 DNA；
2. 质量好：可直接进行 PCR、酶切和杂交等分子生物学实验。

【产品组份】

产品成分	50T	200T
Buffer GTL	12 ml	50ml
Buffer GL	12 ml	50ml
Buffer GW1	13 ml	52ml
Buffer GW2	15 ml	60ml
Buffer GE	10 ml	30ml
Proteinase K	1 ml	4x1ml
Spin Column With Collection Tubes	50 套	200 套

【注意事项】

1. 如 Buffer GTL 和 Buffer GL 产生沉淀，可在 56℃水浴溶解；
2. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段小，提取量下降；
3. 所有离心步骤均为台式离心机，室温下操作；
4. 按要求在 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇。

【自备试剂】

溶菌酶（提革兰氏阳性菌才用，阴性菌不需要，聚合美货号 L99987-5g）、溶菌酶缓冲液（20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton X-100）、无水乙醇、RNase A（可选，聚合美货号 mf109-plus-01）。

【操作步骤】

注意：使用前请先在缓冲液 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签

1. 取 0.5 ~ 3 ml 过夜培养的菌液，室温 10,000 rpm 离心 1 min，弃上清。

注意：根据菌液的浓度决定取液量，当 $OD_{600}=1$ 时，1ml 菌液浓度为 10^9 个细胞，菌液量不要超过 10^9 个细胞，太多会使离心柱的膜堵塞，提取的基因组 DNA 的量减少，纯度降低。

2. 加入 200 ul Buffer GTL，用枪头充分吹打或用涡旋振荡器充分悬浮。

注意：对于较难破壁的革兰氏阳性菌，可略过第 2 步骤，加入溶菌酶进行破壁处理，具体方法为：加入 180 μ l 终浓度为 20 mg/ml 的溶菌酶溶液（买粉末自配，溶菌酶必须用溶菌酶干粉溶解在溶菌酶缓冲液中，否则会导致溶菌酶无活性），37 $^{\circ}$ C 处理 30 min 以上。如要去除 RNA，可加入浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 4 ul，室温处理 5 min。

3. 加入 20 ul Proteinase K 溶液，充分混匀。

4. 加入 200 ul Buffer GL，充分混匀，56 $^{\circ}$ C 水浴 10 min，孵育过程中每隔一段时间颠倒或震荡离心管使样本分散均匀。溶液变得清亮后短暂离心，以去除管盖内壁的水珠。

注意：Buffer GL 加入时可能会产生白色沉淀，一般 56 $^{\circ}$ C 时会消失，不影响后续实验，如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取的 DNA 量少或者提取的 DNA 不纯。

5. 加入 200 ul 无水乙醇，充分震荡，此时可能会出现絮状沉淀，短暂离心以去除管盖内壁水珠。

6. 将一个离心吸附柱放入收集管中，将上一步所得溶液和絮状沉淀转移到吸附柱中，12,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中的滤液。

7. 向吸附柱内加入 500 ul 的 Buffer GW1，室温 12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中滤液。

注意：按要求在 Buffer GW1 中加入无水乙醇，用后及时盖紧，以防乙醇挥发。

8. 向吸附柱内加入 600 ul Buffer GW2，室温 12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中废液。

注意：Buffer GW2 为浓缩液，按要求加入无水乙醇，用后及时盖紧，以防乙醇挥发。

9. 向吸附柱内加入 500 ul Buffer GW2，室温 12,000 rpm 离心 2 min，弃收集管中废液。

注意：此步不能省略，否则残留乙醇会影响基因组 DNA 的后续使用。

10. 将离心吸附柱置于一个新的 1.5 ml 塑料离心管（自备）中，加入 50 ~ 100 ul Buffer GE，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，离心管底溶液即基因组 DNA。

注意：为增加洗脱效率，可将洗脱液 Buffer GE 在 60 $^{\circ}$ C 预热。如需使用去离子水洗脱，可用 NaOH 调整其 pH 值在 7.0 - 8.5 之间，为了增加回收率，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，室温放置 2 min，再次离心收集。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。