

版本号: HS20260801

Gram- Positive Bacterial Genomic DNA Extraction Kit**Instruction Manual****细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书 (革兰氏阳性)****(离心柱型)****一、产品名称**

中文名称: 革兰氏阳性细菌基因组 DNA 提取试剂盒

货号: HS724797A (50 次)

二、产品内容

货号	产品成分	规格	储存条件
HS724797A (50 次)	蛋白酶 K	2 mL	4 °C 以下
	Buffer GA	15 mL	
	Buffer GB	15 mL	
	Buffer GD	13 mL	
	Buffer GW	16 mL	常温 15-30 °C
	Buffer TE	10 mL	
	DNA 吸附柱	50 支	
	2 mL 收集管	50 支	

三、储存条件

该试剂盒中除蛋白酶 K 需低于 4 °C 保存外, 其余组分室温(15 - 30 °C)干燥保存, 自出厂之日起有效期 12 个月。若溶液产生沉淀, 使用前可在 37 °C 水浴中预热以溶解沉淀, 不影响效果。

四、产品介绍

本试剂盒采用特异性结合 DNA 的离心吸附柱和独特的缓冲液系统提取细菌的基因组 DNA。

基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰, OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50 µg/mL 双链 DNA、40 µg/mL 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9。

使用本试剂盒提取的 DNA 可适用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、测序等。

五、使用前注意事项

1. 客户需自备无水乙醇及若干 1.5 mL 离心管。
2. 客户需自备 RNase A (100 mg/mL)
3. 初次使用前应在 Buffer GD 瓶中加入 17 mL 无水乙醇, 混合均匀; 在 Buffer GW 瓶中加入 64 mL 无水乙醇, 混合均匀。(无水乙醇添加后请在瓶身做标记, 以免误用)
4. 使用前请务必检查所有组分是否有沉淀, 如有浑浊或沉淀现象请将其置于 37 °C 水浴直至溶液澄清即可, 不可剧烈振荡, 避免试剂长时间与空气接触。
5. 本试剂盒仅限实验室科学研究用, 为了您的健康和安全, 请穿戴好实验服和一次性手套进行操作。

六、操作步骤

1.取过夜细菌 1 mL-5 mL 于离心管中，12000 r/min 离心 1 min，收集细菌沉淀，弃上清。

注意：某些二价阳离子会抑制溶菌酶的活性，如果细菌培养基中含有二价阳离子（如 MRS 培养基等），应在离心收集细菌后用无菌水洗涤一次，再次收集菌沉淀。

2.在离心管中加入 100 μ L Buffer TE 重悬菌体，后加入 100 μ L 溶菌酶溶液（客户自备，100 mg/mL），37 $^{\circ}$ C 处理 30 min 以上。

某些特殊细菌会生成荚膜，使得溶菌酶无法裂解细胞壁。此时则省略本步骤，直接将收集好的细菌沉淀，加入 200 μ L 的 Buffer GA 进行液氮研磨，研磨好后将菌液转移至一个新的 1.5 mL 离心管中，如果需要去除 RNA，可加入 5 μ L RNase A 溶液（客户自备，100 mg/mL），振荡 15 s，室温放置 5 min。

3.继续向离心管中加入 30 μ L 的蛋白酶 K，充分混匀。

4.继续向离心管中加入 220 μ L 的 Buffer GB，涡旋振荡 15-30 s，之后 70 $^{\circ}$ C 水浴 10 min。

注意：水浴后溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯。

5.继续向离心管中加入 220 μ L 的无水乙醇，充分振荡 15-30 s。

6.将 DNA 吸附柱置于 2 mL 收集管中，将上一步骤所得的溶液及沉淀转移到吸附柱中。室温离心 12000 r/min，1 min，弃废液。

7.将吸附柱重新放回 2 mL 收集管中，加入 500 μ L 的 Buffer GD（已加入无水乙醇），室温离心 12000 r/min，1 min，弃废液。

8.将吸附柱重新放回 2 mL 收集管中，加入 700 μ L 的 Buffer GW（已加入无水乙醇），室温离心 12000 r/min，1 min，弃废液。

9.重复步骤 8 一次。

10.将吸附柱重新放回 2 mL 收集管中，室温离心 12000 r/min，2 min。

注意：无水乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。为确保后续实验，务必空离去除无水乙醇。

11.将吸附柱置于新的 1.5 mL 离心管中。室温静置或超净工作台风干 5 min，以彻底挥发残余的无水乙醇。

12.向吸附柱柱膜中央上方小心加入 30-100 μ L Buffer TE（此步骤请谨慎操作，吸头请勿接触柱膜，Buffer TE 经 65 $^{\circ}$ C 预热后再加入有助于提高洗脱效率），室温静置 3-5 min，室温离心 12000 r/min，1 min，洗脱液即为 DNA 溶液。洗脱的 DNA 保存在 -20 $^{\circ}$ C。

注意：洗脱液的 pH 对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，需使用 ddH₂O 做洗脱液，并保证其 pH 在 7.0-8.5 范围内，pH 低于 7.0 会降低洗脱效率。且 DNA 产物应保存在 -20 $^{\circ}$ C，以防 DNA 降解。为了增加 DNA 的回收率，可将得到的溶液重新加入吸附柱中，室温放置 2 min，12000 r/min，1 min 将 DNA 溶液收集到离心管中。

使用 ddH₂O，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

七、危险警告

吞咽或吸入有害。造成皮肤刺激。造成严重眼刺激。吸入可能导致过敏或哮喘症状或呼吸困难。

避免吸入粉尘/烟/气体/气雾/蒸汽/喷雾。只能在室外或通风良好处使用。戴防护手套/穿防护服/戴防护眼罩/戴防护面罩/戴呼吸面罩，如已接触或有疑虑：呼叫中毒急救中心/医生。将人转移到空气新鲜处，保持呼吸舒适体位。脱掉沾染的衣服。按当地法规处置内装物/容器。