

# 细菌基因组 DNA 提取

## 微量说明书

编号 组分	ZD-TG-07-50	ZD-TG-07-100	ZD-TG-07-200
微量离心柱	50 个/包×1	50 个/包×2	50 个/包×4
1.5ml 离心管	50 个/包×1	50 个/包×2	50 个/包×4
溶液 ST	15ml/瓶×1	30ml/瓶×1	60ml/瓶×1
Proteinase K	2mg/管×1	2mg/管×2	2mg/管×3
RNase A	2mg/管×1	2mg/管×2	2mg/管×3
玻璃珠	15g/瓶×1	15g/瓶×1	30g/瓶×1
溶液 GH	15ml/瓶×1	30ml/瓶×1	60ml/瓶×1
溶液 W1	8ml/瓶×1	20ml/瓶×1	40ml/瓶×1
溶液 W2	6ml/瓶×1	12ml/瓶×1	24ml/瓶×1
溶液 TE	6ml/瓶×1	6ml/瓶×1	12ml/瓶×1
说明书	1 份	1 份	1 份

### ■ 产品介绍

适用于从细菌中提取基因组 DNA。试剂盒采用独特试剂配方和特别制造固相吸附介质。在产品独有缓冲液体系的作用下，细菌基因组 DNA 从菌体中快速释放，吸附于高性能固相基质，洗脱后即可获得高纯度 DNA。

### ■ 存储和稳定性

Proteinase K（固体）及 RNaseA（固体）置于 2~8℃ 长期保存。其余组分室温避光保存。

保质期：12 个月。

### ■ 使用前准备

- 阅读说明书。自备试剂和耗材：纯水、无水乙醇、合适规格的离心管。  
盒中的 1.5 ml 离心管专用于收集最后一步的 DNA 溶液。
- 离心均室温进行。
- 首次使用前，分别向溶液 W1 和 W2 瓶中按标签要求添加无水乙醇，摇匀后标记备用。
- 每管 Proteinase K 和 RNase A 首次使用前各用 400µl 纯水完全溶解。如酶溶解后未短时间用完时，按每次用量分别分装成小份并 -20℃ 保存备用。避免反复冻融使酶活力下降。
- 室温过低时需观察溶液 ST 是否有沉淀。若出现沉淀时，50℃~60℃ 水浴至沉淀溶解溶液澄清，摇匀后使用。

## ■ 操作步骤

1. 取 100~500 $\mu$ l 细菌培养液，12000 $\times$ g 离心 2min。
2. 弃上清液。向沉淀中加入 100mg 玻璃珠及 250 $\mu$ l 溶液 ST，最高转速涡旋振荡 5~10min。
3. 向管中加入 Proteinase K 5 $\mu$ l 及 RNase A 5 $\mu$ l，充分混匀。56 $^{\circ}$ C 孵育 15~30min。
4. 向管中加入 250 $\mu$ l 溶液 GH 及 250 $\mu$ l 无水乙醇。涡旋混匀 15sec 后，12000 $\times$ g 离心 3min。
5. 将上清液移入套有收集管的微量离心柱中，12000 $\times$ g 离心 1min。取出离心柱后弃去收集管中废液，将离心柱放回收集管中。

注：本步及后续步骤中离心后如发现微量柱中有液体残留时，需增加转速再次离心使液体全部通过微量柱。

6. 向离心柱中加入 200 $\mu$ l 溶液 W1，8000 $\times$ g 离心 1min。
7. 向离心柱中加入 200 $\mu$ l 溶液 W2，8000 $\times$ g 离心 30sec。弃去收集管中废液，将离心柱放回。
8. 重复步骤“7”一次。
9. 12000 $\times$ g 以上离心 2min。
10. 将离心柱取出后放入新的 1.5ml 离心管（使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理）中。向柱中央加入 5~20 $\mu$ l 溶液 TE。室温放置 2~3min，12000 $\times$ g 离心 1min，DNA 溶液即被收集在离心管中。  
注意！DNA 溶液用于后续分析前，12000 $\times$ g 离心 1min，小心吸取液体上清使用，不可振摇或吸打混匀液体，这会吸入底部沉淀的从柱子上掉落的颗粒，造成检验结果异常。

注 1)：为提高得率，可向离心柱中央再加入 5~20 $\mu$ l 溶液 TE，室温放置后离心收集 DNA 溶液，注意这会增大溶液体积从而降低 DNA 浓度。也可将离心收集的 DNA 溶液重新加回柱膜中央后室温放置 2min，12000 $\times$ g 离心 1min 收集液体，这可提升 DNA 浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

注 2)：可自备纯水代替溶液 TE。纯水 pH 值不低于 7，且 DNA 产物应于 -20 $^{\circ}$ C 保存以防降解。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页：<http://www.genepure.com>

电话：4008780133