

细菌 DNA/RNA 提取试剂盒

说明书

编号 组分	ZD-TG-92-50
mini 离心柱	50 个/包×2
1.5 ml 离心管	50 个/包×2
Proteinase K	5mg/管×1
玻璃珠	15g/瓶×1
溶液 RB	30ml/瓶×1
溶液 W1	20ml/瓶×1
溶液 W2	12ml/瓶×1
溶液 RW2	12ml/瓶×1
溶液 TE	12ml/瓶×1
RNase-Free 水	12ml/瓶×1
说明书	1 份

存储和稳定性

Proteinase K (固体) 置于 2~8℃ 长期储存, 其余组分室温避光储存。如酶溶解后未立即用完, 应按每次用量分别分装成小份后 -20℃ 保存备用, 以避免反复冻融使酶活力下降。

保质期: 12 个月。

产品介绍

产品适用于从各种细菌中分别提取 DNA 及总 RNA。在产品独有的缓冲液作用下, DNA 和 RNA 快速释放后分别吸附于高性能固相基质, 洗脱后即可获得高纯度核酸。产品具有操作快速简便、核酸纯度高、得率高等优点。

使用前准备

- 阅读说明书, 备好必需的试剂和仪器。自备试剂耗材: 无水乙醇、2ml 离心管、纯水。盒中的 1.5ml 离心管专用于步骤“7”和“13”。
- 首次使用前, 分别向溶液 W1、W2 和 RW2 瓶中按各自标签要求加入无水乙醇, 摇匀后标记备用。
- 每管 Proteinase K 首次使用前用 550µl 纯水完全溶解。
- 从步骤“8”开始, 使用无 RNase 枪头移取液体避免污染。
- 离心均室温进行。

操作步骤

1. 取 0.5-2ml 过夜培养菌液或 $0.5\sim 2\times 10^9$ 个细菌于 2ml 离心管 (自备) 中, 12000×g 离心 2min。然后弃去全部上清液, 保留细菌沉淀。向管中加入 275µl 溶液 RB、225µl 纯水及约 200mg 玻璃珠, 最高转速涡旋混匀 10min。再向管中加入 Proteinase K 10µl, 混匀后 37℃ 水浴 15~30 min, 期间每隔 5min 颠倒混匀数次。水浴结束后将离心管取出, 12000×g 离心 3min。

DNA 提取

2. 将管中上清液移入套有收集管的 mini 离心柱中, 12000×g 离心 1min (DNA 即结合在柱上)。取出离心柱, 将收集管中的液体全部移入新的 2ml 离心管 (自备) 中, 按步骤“8~13”提取 RNA。将离心柱放回收集管中。
3. 向柱中加入 550µl 溶液 W1, 12000×g 离心 1min。取出离心柱, 弃去收集

管中废液，将离心柱放回收集管中。

4. 向柱中加入 550 μ l 溶液 W2, 12000 \times g 离心 30sec。取出离心柱，弃废液，将离心柱放回。
5. 重复步骤“4”一次。
6. 最高转速（12000 \times g 以上）离心 2 min。
7. 将离心柱取出后放入新 1.5ml 离心管中。向柱中央加入 50~100 μ l 溶液 TE，室温放置 2~3min，12000 \times g 离心 1min。DNA 溶液即收集在离心管中。

注 1): 为提高得率，可向柱中央再加入 50~100 μ l 溶液 TE，室温放置后 12000 \times g 离心 1min 收集、合并 DNA 溶液。注意这会增大溶液的体积导致 DNA 浓度降低。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。

下表为 mini 柱用溶液 TE 按不同方法洗脱 gDNA 得率（供参考）。

每次加入溶液 TE 的体积		50 μ l	100 μ l
D N A 得 率	步骤“7”溶液 TE 洗脱后	59 % (50 μ l)	74% (100 μ l)
	向柱中央再加入新的溶液 TE 洗脱后	82% (100 μ l)	87% (200 μ l)
	将步骤“7”收集的 DNA 溶液重新加回柱中再次洗脱后	72% (50 μ l)	82% (100 μ l)

*括号内为收集到的 DNA 溶液总体积。

注 2) 可选用纯水（自备）代替溶液 TE 进行洗脱。纯水 pH 值不低于 7，并且 DNA 洗脱液应置于-20 $^{\circ}$ C 保存以防止降解。

RNA提取

8. 向步骤“2”收集的液体中加入其一半体积的无水乙醇（例如收集的液体体积为 400 μ l，则加入 200 μ l 无水乙醇），充分混匀。
9. 将混匀液移入新的套有收集管的 mini 离心柱中，12000 \times g 离心 1min(RNA 即结合在柱上)。取出离心柱，弃去收集管中废液，将离心柱放回收集管。
10. 向柱中加 550 μ l 溶液 RW2。12000 \times g 离心 30sec，取出离心柱，弃废液，将离心柱放回。
11. 重复步骤“10”一次。
12. 最高转速（12000 \times g 以上）离心 2min。
13. 将离心柱取出后放入新的 1.5ml 离心管中。向柱中央加入 RNase-Free 水 50~100 μ l，室温放置 2~3min。12000 \times g 离心 1min。RNA 溶液即收集在离心管中。

注：为提高得率，可向柱中央再加入 RNase-Free 水 50~100 μ l，室温放置后 12000 \times g 离心 1min 收集、合并 RNA 溶液，注意这会增大溶液的体积导致 RNA 浓度降低。也可将离心收集的 RNA 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 RNA 浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页：www.genepure.com

电话：4008780133