

Onestep-Lysis™ Bacteria DNA Kit**一步法细菌基因组 DNA 提取试剂盒****目录号**

DNE17-01 (50 preps)

DNE17-02 (100 preps)

试剂盒组成

Component	DNE17-01 (50 preps)	DNE17-02 (100 preps)
Buffer CTS	30 ml	60 ml
Buffer WB1	25 ml	50 ml
Buffer WB2 (concentrate)	13 ml	25 ml
	(使用前按瓶上标签加入无水乙醇)	
Buffer TE	15 ml	30 ml
RNase A (25 mg/ml)	500 µl	1 ml
Spin Columns AC with Collection Tubes	50	100

保存方法

室温 (15-30°C) 保存。



本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品介绍

本试剂盒采用特异性吸附 DNA 的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,可以从细菌中成功提取高质量 DNA。独特配方的裂解液可以去除杂质蛋白以及细胞中其他有机化合物,提取的基因组 DNA 纯度高、片段大、质量稳定可靠,可以直接用于各种 PCR、酶切、文库构建、Southern Blot、芯片检测、高通量测序等实验。

注意事项

1. 自备异丙醇、溶菌酶(用于革兰氏阳性菌)。
2. 低温时如果 Buffer CTS 产生沉淀,请水浴加热使其溶解后使用。
3. 第一次使用 Buffer WB2 前按照试剂瓶标签的说明加入无水乙醇。

操作步骤 (以下所有离心步骤均在室温下进行)

1. 取 0.5-2 ml 细菌培养液(最多不超过 2×10^9 个细胞),10,000 rpm (~11,500×g)离心 1 min,尽可能的吸弃上清,收集细菌沉淀。
注意: 起始处理量可以根据细菌密度、种类、预期产量进行调整。
2. **革兰氏阴性菌:** 向菌体沉淀中加入 600 μ l Buffer CTS 和 10 μ l RNase A (25 mg/ml),反复吸打裂解菌体,涡旋振荡 1 min(不要有菌体团块),室温放置 10 min,进行操作步骤 3。
革兰氏阳性菌: 先进行溶菌酶破壁处理(如不确定为何种菌属,请按处理革兰氏阳性菌的方法进行)。向菌体沉淀中加入 200 μ l 溶菌酶缓冲液(20 mg/ml)*,吸打重悬菌体,37 $^{\circ}$ C 温育 30-60 min,12,000 rpm (~13,400×g)离心 2 min,吸弃上清。向菌体沉淀中加入 600 μ l Buffer CTS 和 10 μ l RNase A (25 mg/ml),反复吸打裂解菌体,涡旋振荡 1 min(不要有菌体团块),室温放置 10 min,进行操作步骤 3。
注意: 1) *溶菌酶干粉用 Buffer TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM Na₂EDTA, PH8.0)溶解,配制成 20 mg/ml; 或者菌体直接用 200 μ l Buffer TE 重悬后,用枪头挑取少许溶菌酶加入。 2) 对于大部分的革兰氏阳性菌,使用溶菌酶可以有效裂解,但对于金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌等葡萄球菌破壁时,还应加入少量的溶葡萄球菌酶帮助破壁。 3) 裂解物室温孵育,请勿加热。
3. 加入 300 μ l 异丙醇,充分颠倒混匀(此时可能会出现沉淀),将得到的溶液和可能产生的沉淀一起转入已装入收集管的吸附柱(Spin Columns AC)中,若一次不能将全部溶液加入吸附柱中,请分两次转入。12,000 rpm 离心 1 min,倒弃废液。
4. 向吸附柱 AC 中加入 500 μ l Buffer WB1,12,000 rpm 离心 1 min,倒弃废液。
5. 向吸附柱 AC 中加入 600 μ l Buffer WB2 (使用前请确认是否已加入无水乙醇!),12,000 rpm 离心 1 min,倒弃废液。
6. 重复步骤 5。
7. 将吸附柱 AC 放回空收集管,12,000 rpm 离心 2 min,弃收集管。
注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除,乙醇的残留会降低洗脱效率,影响后续的酶促反应(酶切、PCR 等)。为确保下游实验不受残留乙醇的影响,可以将吸附柱放入新的离心管,开盖放置几分钟,以彻底晾干残余乙醇。

8. 将吸附柱 AC 放入新的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-100 μ l Buffer TE，室温放置 3-5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集 DNA 溶液。-20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。
注意：如果要提高 DNA 的终浓度，可以使用小于 100 μ l TE 洗脱，也可以将步骤 8 所得的 DNA 溶液重新加至吸附膜上，再次离心洗脱。如果预期 DNA 的量小于 1 μ g，推荐用 50 μ l Buffer TE 进行洗脱。
-