

InniPure™ Bacterial Genomic DNA Extraction Kit

中文名称: 细菌基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱法)

产品编号: ND0301-050 / ND0301-200

包装规格: 50 rxns / 200 rxns

存储条件: 该试剂盒置于室温 (15-30℃) 干燥条件下, 可保存 12 个月, 更长时间的保存可置于 2-8℃。2-8℃ 保存条件下若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在 37℃ 水浴中预热 10 min, 以溶解沉淀。

产品概述

本试剂盒采用可以特异性结合 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。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司新型材料, 能够高效、专一吸附 DNA, 可去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组 DNA 片段大, 纯度高, 质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

产品特点

简单快速: 1 h 内即可获得超纯的基因组 DNA。

纯度高: 获得的 DNA 可直接用于 PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

试剂盒组成

Component	ND0301-050 (50 rxns)	ND0301-200 (200 rxns)
Buffer GA	15 ml	60 ml
Buffer GB	15 ml	60 ml
Buffer GD	13 ml	52 ml
Buffer PW	15 ml	60 ml
Buffer TE	15 ml	60 ml
Proteinase K	1 ml	4 × 1 ml
Spin Columns	50 个	200 个
Collection Tubes (2 ml)	50 个	200 个

操作步骤

使用前请先在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取细菌培养液 1-5 ml, 10,000 rpm (~11,500×g) 离心 1 min, 尽量吸净上清。
2. 向菌体沉淀中加入 200 μl 缓冲液 GA, 振荡至菌体彻底悬浮。

注意: 对于较难破壁的革兰氏阳性菌, 可略过第 2 步骤, 加入溶菌酶溶液进行破壁处理, 具体方法为: 加入 110 μl 缓冲液 (20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton), 和 70 μl 溶菌酶溶液 (50 mg/ml, 客户自备), 37℃ 处理 30 min 以上。如果需要去除 RNA, 可加入 4 μl RNase A (100 mg/ml) 溶液 (客户自备), 振荡 15 sec, 室温放置 5 min。

3. 向管中加入 20 μl Proteinase K 溶液, 混匀。
4. 加入 220 μl 缓冲液 GB, 振荡 15 sec, 70℃ 放置 10 min, 溶液应变清亮, 简短离心以去除管盖内壁的水珠。

注意: 加入缓冲液 GB 时可能会产生白色沉淀, 一般 70℃ 放置时会消失, 不会影响后续实验。如溶液未变清亮, 说明细



胞裂解不彻底，可能导致提取 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯。

5. 加入 220 μl 无水乙醇，充分振荡混匀 15 sec，此时可能会出现絮状沉淀，简短离心以去除管盖内壁的水珠。
6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱 CB3 中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 30 sec，倒掉废液，将吸附柱放入收集管中。
7. 向吸附柱中加入 500 μl 缓冲液 GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 30 sec，倒掉废液，将吸附柱放入收集管中。
8. 向吸附柱中加入 600 μl 漂洗液 PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 30 sec，倒掉废液，吸附柱放入收集管中。
9. 重复操作步骤 8。
10. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 2 min，倒掉废液。将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

11. 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-200 μl 洗脱缓冲液 TE，室温放置 2-5 min，12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 2 min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于 50 μl ，体积小影响回收效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用 ddH₂O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20℃，以防 DNA 降解。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱 CB3 中，室温放置 2 min，12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 2 min。

DNA 浓度及纯度检测

得到的基因组 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 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 双链 DNA、40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用 ddH₂O，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。

注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 若缓冲液 GA 或 GB 中有沉淀，可在 37℃ 水浴中重新溶解，并摇匀后使用。
3. 所有的离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。

For Research Use Only !



Website: www.innibio.com
Country of origin: China
Toll-free: +86 400-166-3998
E-mail: sales@innibio.com

—— 聚焦生物技术，发现生命之美！
Focus on biotechnology and discover the beauty of life!