EasyPure® Bacteria Genomic DNA Kit
细菌基因组DNA提取试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号： EE161

版本号： Version 2.1

保存： 试剂盒在15℃-30℃温度下保存18个月。

产品说明

本试剂盒采用酶解法裂解细胞，利用硅胶膜离心柱特异地吸附DNA。 适用于从革兰氏阴性/阳性细菌中高效地提取基因组DNA。提取的基因组DNA适用于酶切、PCR、Southern Blot等实验。

特点

- 裂解能力强，提取速度快，提取量高（高达20 μg）。
- 纯度高，离心柱高效、特异地吸附DNA，有效去除蛋白质、盐类等杂质。

产品组成

Component	EE161-01/11 (50 rxns)
Resuspension Buffer 11 (RB11)	12 ml
Lysis Buffer 11 (LB11)	6 ml
Binding Buffer 11 (BB11)	10 ml
Clean Buffer 11 (CB11)	55 ml
Wash Buffer 11 (WB11)	12 ml
Elution Buffer (EB)	25 ml
RNase A (10 mg/ml)	1 ml/-
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml
Genomic Spin Columns with Collection Tubes	50 each

样品要求

提取革兰氏阴性/阳性细菌≤10^9 cells

操作步骤

- 使用前加不同体积100%乙醇到BB11和WB11中。

规格	BB11	WB11
50 rxns	15 ml	48 ml

- 请自备溶菌酶。为避免反复冻融而降低溶菌酶活性，溶菌酶现用现配(4 mg 溶菌酶/200 μl RB11)。
- 准备70%乙醇用于革兰氏阳性球菌的提取；准备玻璃珠用于放线菌菌丝团的打碎。

所有离心均在室温下进行。

1、材料处理

Gram-negative Bacteria裂解

(a) 取过夜培养的革兰氏阴性细菌1 ml，12,000×g离心1分钟，尽量弃上清。

(b) 加入100 μl LB11和20 μl Proteinase K，振荡至菌体彻底悬浮。

(c) 55℃孵育15分钟。(此时溶液应呈清亮状，如果此时溶液未呈清亮状，可延长孵育时间至30分钟，每隔5分钟摇匀一次。)

Gram-positive Bacteria裂解

(a) 取过夜培养的革兰氏阳性细菌1 ml，12,000×g离心1分钟，弃上清。

(b) 向菌体中加入RB11 200 µl（含有4 mg溶菌酶）重悬，37℃ 振荡孵育不低于60分钟（注意：当菌量较多时延长孵育至3 小时），10,000×g离心1分钟，弃上清。

（注意：当提取革兰氏阳性球菌时，先用500 µl 70%乙醇重悬，冰浴20分钟后10,000×g离心1分钟，弃上清。然后再做此步。当提取放线菌时，如果出现菌丝抱团现象，用玻璃珠将菌丝团打散。）

(c) 加入100 µl LB11和20 µl Proteinase K，振荡至菌体彻底悬浮。

(d) 55℃孵育15分钟。(此时溶液应呈清亮状，如果此时溶液未呈清亮状，可延长孵育时间至30 分钟，每隔5 分钟摇匀一次。)

2、加入20 µl RNase A混匀静置2分钟。

3、加入400 µl BB11 (使用前请先检查是否加入无水乙醇)涡旋30秒。(此步可能会产生白色絮状沉淀或者透明胶状物，但不影响基因组DNA的提取。)

4、将全部的溶液加入离心柱中，12,000×g离心30 秒，弃流出液。

5、加入500 µl CB11，12,000×g离心30秒，弃流出液。

6、重复步骤5一次。

7、加入500 µl WB11 (使用前请先检查是否加入无水乙醇)，12,000×g离心30秒，弃流出液。

8、重复步骤7一次。

9、12,000×g离心2分钟，彻底除去残留的WB11。

10、将离心柱置于一干净的离心管中，在柱中央加入50~200 µl预热EB(60-70℃)或去离子水(pH>7.0)，室温静置2分钟，12,000×g离心1分钟，洗脱DNA。

11、重复步骤10一次。洗脱的DNA于-20℃保存。

注意事项

- 样品用量不宜过多，以免影响提取效果。
- 为保证所提取DNA的质量，使用新鲜的菌体。
- 使用无菌离心管和枪头，避免DNase污染。
- 第二次洗脱可以使用相同的离心管或不同的离心管。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号：V2.1-202512

服务电话 +86-10-57815020
服务邮箱 complaints@transgen.com

北京全式金生物技术股份有限公司
www.transgen.com
trans@transgen.com
+86-400 898 0321
北京市海淀区中关村东升国际科学园4号楼