

## EasyPure<sup>®</sup> Bacteria Genomic DNA Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EE161

版本号: Version 2.0

保存: 试剂盒在室温(15-25°C)干燥条件下保存一年。

### 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个

### 样品要求

提取革兰氏阴性/阳性细菌 $\leq 10^9$  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

- 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。
- 加入100 µl LB11和20 µl Proteinase K, 振荡至菌体彻底悬浮。
- 55°C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°C 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°C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°C)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°C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: V2.0-202306

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 [complaints@transgen.com](mailto:complaints@transgen.com)

