

SteadyPure 细菌基因组DNA提取试剂盒

SteadyPure Bacteria Genomic DNA Extraction Kit

Code No. AG21007 / AG21008

产品概述

SteadyPure 细菌基因组 DNA 提取试剂盒旨在给客户提供一种快速、简单、经济实惠的小量菌体基因组 DNA 的提取方法。经本试剂盒提取所得的 DNA 溶解于水或者 Tris 缓冲液中，可直接用于 PCR 扩增、DNA 序列分析等。

安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

【注意：实验过程中产生的废液需要收集在废液桶中专门处理。】

如果 Buffer LS-2、Buffer BS-2 或 Buffer WA 不小心溅到皮肤上，请立刻擦拭并用大量清水冲洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

产品组成^{*1}

组分	AG21007 (50 rxns)
Proteinase K (20 mg/ml) ^{*2}	1 ml
Lysozyme (20 mg/ml) ^{*2}	1.25 ml X 2 pcs
RNase A (10 mg/ml) ^{*2}	500 µl
Buffer BP	25 ml
Buffer LS-2	9 ml
Buffer BS-2	10 ml
Buffer WA	25 ml
Buffer WB ^{*3}	27 ml
Elution Buffer	20 ml
Bacterial DNA Mini Columns	50 sets
Collection tubes	50 pcs

*1: AG21008 无独立包装，为 5 个 AG21007 产品组合而成。

*2: 此三种组分包装于 Package 2-1 中，需放置于 -20℃ 保存；其余组分均包装于 Package 2-2 中，室温 (15-25℃) 保存。

*3: Buffer WB 在首次使用前，请添加 63 ml 的 100% 乙醇（使得 Buffer WB：无水乙醇为 3：7），混合均匀后在瓶子上做好标记。

实验前准备

1. 无水乙醇、灭菌水、1.5 ml 离心管、水浴。
2. Buffer LS-2 若出现沉淀，请于 50-60℃ 加热溶解，待溶液恢复至室温后使用。
3. 洗脱结合于 DNA 制备膜上的基因组 DNA 时，将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50-65℃ 使用，将会提高 DNA 的洗脱效率。

保存及运输

保存温度：Package 2-1 -20℃ 保存；其中 Lysozyme (20 mg/ml) 融化后请于 4℃ 长期保存；

Package 2-2 室温 (15-25℃) 保存（温度较低时有的组分会出现沉淀，使用前可 37℃ 加热至沉淀消失，然后使用）。

运输温度：Package 2-1 干冰运输或 -20℃ 冰袋运输；

Package 2-2 室温运输。

注意事项

1. 为了从样本材料中获得最佳 DNA 产量，离心后的菌饼一定要充分悬浮，然后再加入裂解液进行处理并确保裂解充分。
2. 此说明书细菌 DNA 提取方法中菌体样本量及试剂用量已经过优化，能满足大多数实验要求。如果提取效果不佳，可对试剂用量进行适当的调整（例如样本量过多，可适当提高相应试剂的用量，或使用多个 Mini Columns 进行 DNA 吸附）。

➤ 操作流程

Gram-negative Bacteria 的裂解

- ◆ 12,000 rpm 离心 2 分钟收集 $1.0 \sim 5.0 \times 10^9$ 的细菌，弃上清（培养基）。
- ◆ 加入 180 μ l 的 Buffer LS-2 裂解细菌，然后加入 20 μ l 的 Proteinase K (20 mg/ml) 和 10 μ l 的 RNase A (10 mg/ml) 充分振荡混匀，于 56°C 水浴温育 10 分钟至溶液变的透明。
- ◆ 加入 200 μ l 的 Buffer BS-2 和 200 μ l 的 100% 乙醇，充分吸打混匀。



180 μ l Buffer LS-2
20 μ l Proteinase K
10 μ l RNase A
56°C 水浴 10 min

200 μ l Buffer BS-2
200 μ l 100% 乙醇

Gram-positive Bacteria 的裂解

- ◆ 12,000 rpm 离心 2 分钟收集 $0.5 \sim 2.0 \times 10^9$ 的细菌，弃上清（培养基）。
- ◆ 加入 500 μ l 的 Buffer BP 重悬细菌、加入 50 μ l 的 Lysozyme (20 mg/ml)，充分混匀，于 37°C 水浴温育 60 分钟（温育期间可每隔 10 分钟颠倒混匀一次）。
- ◆ 室温下 12,000 rpm 离心 5 分钟，弃上清。
- ◆ 加入 180 μ l 的 Buffer LS-2，然后加入 20 μ l 的 Proteinase K (20 mg/ml) 和 10 μ l 的 RNase A (10 mg/ml) 充分振荡或吹打混匀，56°C 水浴温育 10 分钟至溶液变成透明状。
(如果此时溶液未透明澄清，可继续裂解 30 分钟，并每隔 5 分钟振荡或吹打混匀一次)。
- ◆ 向溶液中分别加入 200 μ l 的 Buffer BS-2、200 μ l 的 100% 乙醇，充分混匀。



500 μ l Buffer BP
50 μ l Lysozyme
37°C 水浴 60 min
离心，弃上清

180 μ l Buffer LS-2
20 μ l Proteinase K
10 μ l RNase A
56°C 水浴 10~30 min

200 μ l Buffer BS-2
200 μ l 100% 乙醇

1) 将上述溶液转移至 *Bacterial DNA* Mini Column 中，室温静置 1 min 后，室温下 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃滤液。



离心、弃滤液

2) 向 Mini Column 中加入 500 μ l 的 Buffer WA，室温 12,000rpm 离心 1 分钟，弃滤液。

3) 向 Mini Column 中加入 750 μ l 的 Buffer WB，室温 12,000rpm 离心 1 分钟，弃滤液。

(注：请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的 100% 乙醇。)

4) 重复步骤 3) 一次。

5) 将 Mini Column 安置于新的 2 ml Collection Tube 上，室温 12,000 rpm 离心 2 分钟。

(注：此步骤需竖直将吸附柱取出，避免吸附柱柱头触碰收集管壁；安装于新的 2.0 ml Collection Tube 上有利于提高 DNA 纯度。)



500 μ l Buffer WA 洗一次
750 μ l Buffer WB 洗两次

6) 将 Mini Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管上，在 Mini Column 膜的中央处加入 50 μ l Elution Buffer 或灭菌水，室温静置 1 分钟。

(注：将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50~65°C 使用时有利于提高洗脱效率。)

7) 室温 12,000 rpm 离心 2 分钟洗脱 DNA。

(如需获得更大收量，可将离下液重新加入到 Mini Column 膜的中央，室温静置 2 分钟后，12,000 rpm 离心 2 分钟洗脱 DNA。)



加入 50 μ l 洗脱液、离心