

细菌基因组DNA 提取试剂盒

仅供科研使用

产品编号

GBB100, GBB300

完整说明书(英文)下载

如果您是第一次使用本产品或对本产品的操作步骤不熟悉,请您经由扫描QR code下载并详阅完整说明书

Geneaid



Instruction Manual Download

1. 处理材料

A. 革兰氏阴性菌

● 取1-5 ml过夜培养的菌液 (最多 1×10^9 细胞),加入1.5 ml微量离心管中,以14-16,000×g离心1分钟,尽量吸除上清。

● 加入180 μ l缓冲液GT,使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀。

注意: 如果有未彻底混匀的菌块,会影响裂解,导致提取量和纯度偏低。

● 加入20 μ l Proteinase K (使用前依据标签加入适量体积 ddH_2O ,充分摇动混匀),充分摇动混匀,在60°C放置10分钟,期间每3分钟颠倒混匀样品。

B. 革兰氏阳性菌

● 取1-5 ml过夜培养的菌液 (最多 1×10^9 细胞),加入1.5 ml微量离心管中,以14-16,000×g离心1分钟,尽量吸除上清。

● 取需要体积缓冲液Gram+ (200 μ l/样品) 加入另一1.5 ml微量离心管中,取Lysozyme (4mg/ml) 加入缓冲液Gram+,使用涡旋振荡器振荡混匀。

● 向留有菌体沉淀的离心管中加入上述200 μ l缓冲液Gram+,使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀,在37°C放置30分钟,期间每10分钟颠倒混匀样品。

注意: 如果有未彻底混匀的菌块,会影响裂解,导致提取量和纯度偏低。

● 加入20 μ l Proteinase K (使用前依据标签加入适量体积 ddH_2O ,充分摇动混匀),充分摇动混匀,在60°C放置10分钟,期间每3分钟颠倒混匀样品。

2. 细胞裂解

加入200 μ l缓冲液GB,充分摇动混匀,70°C放置至少10分钟使溶液应变清亮 (期间每3分钟再颠倒混匀)。

注意: 在此期间,将洗脱缓冲液EB置于70°C预热 (200 μ l/样品)。

可选步骤: 如果需要去除RNA,可加入5 μ l RNaseA (50 mg/ml) 溶液,充分摇动混匀,室温放置5分钟。

3. 吸附

加入200 μ l 无水乙醇,充分摇动混匀,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。将吸附柱GD放入2 ml收集管中。将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入吸附柱GD中,以14-16,000×g离心1分钟,丢弃收集管,将吸附柱放入新的收集管中。

4. 漂洗

向吸附柱GD中加入400 μ l漂洗液W1,以14-16,000×g离心30秒,倒掉收集管中的废液,将吸附柱放入收集管中。向吸附柱GD中加入600 μ l漂洗液Wash (使用前请先检查是否已加入无水乙醇),以14-16,000×g离心30秒,倒掉收集管中的废液,将吸附柱GD放入收集管中。以14-16,000×g离心3分钟将吸附柱中残余的漂洗液去除。

注意: 漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 (酶切,PCR等) 实验。

5. 洗脱

将吸附柱GD放入一个干净的离心管中,向吸附膜中间位置悬空滴加50-200 μ l预热的洗脱缓冲液EB,室温放置3分钟后,以14-16,000×g离心1分钟收集DNA溶液。

注意:

1. 为了增加DNA回收率,可将得到的溶液重新加入吸附柱中,室温放置2分钟,以14-16,000×g离心1分钟,将DNA溶液收集到离心管中。

2. 如果使用 ddH_2O 做洗脱液,需保证其pH值 ≥ 8.0 , pH值低于8.0会降低洗脱效率。