



## Bacterial DNA Kit 细菌 DNA 提取试剂盒

### 产品简介

Bacterial DNA Kit 可以快速简便地从大量不同种类的细菌中提取高质量的总DNA。该试剂盒采用硅胶柱，可以快速地得到约15-30 ug A260 /A280的比值在1.7-1.9之间的高质量的DNA。该试剂盒不需要酚氯仿抽提，所得DNA可以用于PCR，Southern杂交，酶切消化等实验。  
注意：细菌DNA提取试剂盒提取的是细胞的总DNA，包括质粒DNA。

### 试剂盒组成

产品编号	D3101	D3105	D3106	D3107
次数	5	50	100	200
纯化柱子	5	50	100	200
收集管	5	50	100	200
Buffer BTL	1.2ml	24ml	45ml	55ml
Buffer BL	1.2ml	15ml	30ml	55ml
Buffer WB	3ml	28ml	55ml	110ml
DNA Wash Buffer	2	13ml	26ml	26ml*2
Proteinase K	120μl	1.05ml	1.05ml*2	2.1ml*2
Lysozyme	120μl	1.05ml	1.05ml*2	2.1ml*2
说明书	1	1	1	1

### 储存和稳定性

Proteinase K与Lysozyme常温运输,-20℃保存。其余组分常温保存。Buffer BL与Buffer BTL可能有沉淀产生，37℃水浴溶解后即可。试剂盒18个月内有效。

### 实验前准备

请仔细阅读该手册并熟悉各个步骤，在开始之前准备好所有的试剂盒组分和必需的器材。

### 浓缩的DNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释：

D3101 加8 ml；D3105加入52 ml；D3106与D3107每瓶加入104 ml 无水乙醇

### 需自备器材

无水乙醇 1.5ml离心管 水浴 离心机

### 操作步骤

- 1.取细菌培养液1-5 ml，10,000 rpm(~11,500×g)离心1分钟，尽量吸净上清。
- 2.向菌体沉淀中加入200μl Buffer BTL 缓冲液重悬，并加入20μl Lysozyme，混匀37℃孵育10-30min，期间颠倒离心管几次。  
注意：对于较易破壁的革兰氏阴性菌，用BTL重悬后可以不用溶菌酶处理，直接继续往下操作。
- 3.加入20μl Proteinase K(20 mg/ml)溶液，混匀。置于55℃水浴中10-30min，直至完全溶解细菌。每5min，震荡一次。
- 4.可选步骤：加入5μl的RNase A(用户自备，GBCBIO#P3414)并反复颠倒混匀，室温孵育5分钟。
- 5.加入220μl Buffer BL，振荡15秒，70℃放置10分钟，溶液应变清亮。  
注意：加Buffer BL 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。
- 6.加220μl 无水乙醇，充分振荡混匀15秒，此时可能会出现絮状沉淀。
- 7.将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一GBC吸附柱中(吸附柱放入收集管中)，12,000 rpm(~13,400×g)离心30秒，倒掉废液，将GBC吸附柱放入收集管中。
- 8.向GBC吸附柱中加入500μl Buffer WB，12,000 rpm 离心30秒，倒掉废液，将GBC吸附柱放入收集管中。
- 9.向GBC吸附柱 中加入600μl DNA Wash Buffer(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm(~13,400×g)离心30秒，倒掉废液，GBC吸附柱放入收集管中。
- 10.向GBC吸附柱 中加入600μl DNA Wash Buffer，12,000 rpm(~13,400×g)离心30秒，倒掉废液，将GBC吸附柱放入收集管中。
- 11.12,000 rpm(~13,400×g)离心2分钟，倒掉废液，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
- 12.将GBC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50-200μl 洗脱缓冲液TE或灭菌去离子水，室温放置2-5分钟，12,000 rpm(~13,400×g)离心2分钟，将溶液收集到离心管中。

注意：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中，室温放置2分钟，12,000 rpm(~13,400×g)离心2分钟。洗脱缓冲液体积不应少于50μl，体积过小影响回收效率。洗脱液的pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其pH 值在7.0-8.5 范围内(可以用NaOH 将水的pH 值调到此范围)，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。

## 可能出现的问题与对策

问 题	原 因	建 议
纯化柱阻塞	裂解不完全	延长加入 Buffer BTL 和蛋白酶后的裂解放置时间。加入正确体积的 Buffer BL 和于 70℃放置一段指定的时间。 革兰氏阳性菌必须用溶菌酶处理。
	样本太多	不要超过 5ml 菌液，如果菌密度比较高的话，建议用 1ml 的菌液。
	样本太粘滞	增加 BTL 与 BL 的用量
低 DNA 量	柱子阻塞	见上述。
	洗脱液不足	重复洗脱或增加洗脱体积（见前面的注意事项），加入 DNA 洗脱液并将柱子置于 70℃放置 5min 有助于提高产量。
	洗涤不恰当	DNA 洗涤缓冲液在使用前用无水乙醇按指示稀释。
低 A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> 比率	由于与 Buffer BL 混和不完全导致细胞裂解不足	重复操作确保这次将样本与 Buffer BL 彻底混和均匀。
	由于放置时间不够导致细胞裂解或蛋白降解不完全	延长放置时间，确保没有可见的细胞沉淀。
没有洗脱出 DNA	与 Buffer BL 混和不当导致细胞裂解不足	到吸附柱之前用 Buffer BL 混和完全。
	用 Buffer BTL 时导致细胞或蛋白质裂解不足	使用 Buffer BTL 时增加于 65℃的放置时间，确保细胞被完全裂解。
	Buffer BL 中没有加入无水乙醇	样品过柱前，必须加入无水乙醇调整结合条件
	浓缩洗涤液没有加入乙醇	使用前用指定体积的乙醇稀释 DNA 洗涤缓冲液。
洗涤时柱中有带颜色的遗留物	由于与 Buffer BL 混和不当导致不完全裂解	Buffer BL 是粘稠的，故样本必须与之剧烈混和完全。
	Buffer BL 中没有加入无水乙醇	样品过柱前，必须加入无水乙醇调整结合条件

## 可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G3422	DAB 染色液	100ml
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2
G3424	RIPA 裂解液	100ml
P0018	ECL 发光液	100ml
G3418	TMB Solution For Blotting	100ml
G4308	TMB solution For Elisa	100ml
G3005	30%丙烯酰胺 (29:1)	500ml
G3403	40%丙烯酰胺 (37.5:1)	500ml
G0528	4%多聚甲醛	500ml
G3422	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	500T
G3155	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	1000T
G4256	10X 丽春红染色液	10ml

**广州捷信斯生物科技有限公司**

地址：广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话：020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB:www.gbcbio.cn