



细菌基因组DNA提取试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100015

产品介绍

本产品采用特异性结合 DNA 的硅胶吸附柱和独特的裂解体系，可从各种革兰氏阴性、阳性细菌中快速提取到高质量的基因组 DNA，能最大限度地除去杂蛋白、多糖、非核酸类物质及无机盐离子等，提取过程简单，无需使用酚、氯仿等有毒试剂。提取的基因组 DNA 片段完整、浓度高、质量好，能够直接用于各种常规操作，如 PCR、Real-Time PCR、酶切、文库构建、测序等。

产品目录

产品名称	规格
细菌基因组 DNA 提取试剂盒	50 rxns
	200 rxns

产品组成

组分	50 rxns	200 rxns
缓冲液 LSA	15 mL	50 mL
缓冲液 LSB	15 mL	50 mL
蛋白酶 K	1 mL	1 mL*4
漂洗液 PD	21 mL	84 mL
漂洗液 PW	15 mL	50 mL
洗脱液 EB	15 mL	60 mL
吸附柱 B6	50 个	200 个
收集管	50 个	200 个

产品用途

用于各类细菌的基因组 DNA 提取。

产品特点

- 1. 操作便捷，简单快速。
- 2. 样品适用范围广。
- 3. 提取的基因组 DNA 片段完整、纯度高、质量好。

注意事项

- 1. 首次使用前请在漂洗液 PD 和漂洗液 PW 中加入适量无水乙醇，加入体积请参照标签说明。
- 2. 使用前检查缓冲液 LSA 和 LSB 是否出现浑浊，如若浑浊，可于 37℃水浴至溶液澄清透明，混匀后使用。
- 3. 所有操作步骤均在室温（15 ~ 30 ℃）下进行

操作步骤

使用前请先在漂洗液 PD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标注。



1. 取细菌培养液 0.5 ~ 2 mL ($\leq 3.0 \times 10^9$ 个细菌), 12000 rpm (13400 $\times$ g) 离心 1 min, 弃去培养液。

注: 细菌数量可以通过分光光度计进行测量, $OD_{600}=1.0$ 时约为 $0.8 \sim 1 \times 10^9$ 个细菌/mL, 若细菌数量过多, 可同时按比例增加缓冲液 LSA、缓冲液 LSB、蛋白酶 K 和无水乙醇的用量, 多次过柱收集 DNA。

2. 加入 200 μ L 缓冲液 LSA, 振荡至菌体彻底重悬。

注: 革兰氏阳性菌应先加入 90 μ L Lysozyme 溶菌酶 (50 mg/mL, 需自备) 和 110 μ L 缓冲液 LSA, 振荡使菌体重悬, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min (细胞壁较厚的细菌如金黄色葡萄球菌需要孵育 1 ~ 2 h 才能完全破壁)。若需要提高 DNA 纯度, 可往重悬后的菌体加入 4 μ L 的 RNase A 溶液 (100 mg/mL, 需自备), 振荡混匀, 常温放置 5min。

3. 向管中加入 20 μ L 蛋白酶 K 溶液, 混匀; 再加入 220 μ L 缓冲液 LSB, 振荡 15s, 70 $^{\circ}$ C 孵育 10min, 此时溶液应变澄清透明, 短暂离心去除管盖内壁上的水珠。

注: 革兰氏阳性菌需根据情况延长孵育时间。

4. 加入 220 μ L 无水乙醇, 振荡混匀, 可能会出现絮状沉淀, 短暂离心收集管盖及内壁上的液体。

5. 将上述混合液全部转入置于收集管的吸附柱中 (包括絮状沉淀), 12000 rpm (13400 $\times$ g) 离心 1 min。

注: 若吸附柱堵塞现象, 可以增加离心力和延长离心时间, 若依旧有少量液体残留吸附柱内, 可直接加入漂洗液 PD 进入下一步骤。

6. 弃去滤液, 沿管壁加入 500 μ L 漂洗液 PD 至吸附柱中, 12000 rpm (13400 $\times$ g) 离心 1 min。

7. 弃去滤液, 沿管壁加入 600 μ L 漂洗液 PW 至吸附柱中, 12000 rpm (13400 $\times$ g) 离心 1 min。

8. 重复第 7 步。

9. 弃去滤液, 把吸附柱置于收集管中, 12000 rpm (13400 $\times$ g) 离心 2 min。

注: 空柱离心后, 可开盖放置 2 ~ 5 min, 使残留的乙醇挥发。

10. 将吸附柱转移至新的 1.5 mL 离心管中, 向吸附柱膜中央滴加 50 ~ 100 μ L 洗脱液 EB, 室温静置 2 ~ 5 min, 12000 rpm (13400 $\times$ g) 离心 1 min, DNA 样本放置于 -25 ~ -15 $^{\circ}$ C 保存, 长期保存请放置于 -70 $^{\circ}$ C 以下。

注: 若需获得最高产量, 可将洗脱液 EB 预热至 55 $^{\circ}$ C, 并将第一次洗脱所得溶液重新加入吸附柱再次进行洗脱。

■ 储存及运输条件

室温 (15 ~ 30 $^{\circ}$ C) 保存, 有效期 15 个月。常温 (15 ~ 30 $^{\circ}$ C) 运输。

■ 常见问题及解决方法

问题	可能原因	解决方案
吸附柱堵塞	投入样本量过多	请按照说明书兼容范围投入样本量。
DNA 产量低	样本裂解不彻底	降低样本用量或适当延长裂解时间。
	革兰氏阳性菌破壁不完全	可适量增加 Lysozyme 溶菌酶的用量或延长其消化时间。
	蛋白酶 K 活性下降	更换新的蛋白酶 K, 使用后必须保存于 2 ~ 8 $^{\circ}$ C。
	洗脱效率低	将洗脱液 EB 提前预热至 55 $^{\circ}$ C, 滴加于吸附柱膜中央位置, 增加洗脱体积或洗脱次数。
	缓冲液 PD 或缓冲液 PW 未添加无水乙醇	请按瓶身说明添加无水乙醇至漂洗液 PD 和漂洗液 PW 中, 充分混匀后再使用。
	未将裂解混合液完全转入吸附柱中	裂解后加入无水乙醇, 溶液中会出现絮状沉淀, 需将其同溶液一起转移至吸附柱中。
	盐离子污染	未使用漂洗液 PW 漂洗, 或漂洗次数不够。请按说明书使用漂洗液 PW 漂洗两次。
DNA 纯度低	RNA 残留	增加 RNase A 孵育步骤



乙醇残留

请按说明书空管离心后开盖室温放置 2 ~ 5 min，让乙醇彻底挥发。