

Onestep-Lysis™ Bacteria DNA Kit

一步法细菌 DNA 快速提取试剂盒

目录号: DNE17

试剂盒组成

Component	DNE17-01 (50 preps)	DNE17-02 (100 preps)
Buffer LB	25 ml	50 ml
Buffer WB1	25 ml	50 ml
Buffer WB2 (concentrate)	13 ml	25 ml
	(使用前按瓶上标签加入无水乙醇)	
Buffer EB	15 ml	30 ml
RNase A (25 mg/ml)	500 µl	1 ml
Spin Columns AC with Collection Tubes	50	100

保存方法

室温 (15-30°C) 保存。

产品介绍

本试剂盒采用特异性吸附 DNA 的离心吸附柱和独特的缓冲液系统, 可以从细菌中提取高质量 DNA。独特配方的裂解液可以去除杂质蛋白以及细胞中其他有机化合物, 提取的基因组 DNA 纯度高、片段大、质量稳定可靠。



本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

操作步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

- ✓ 自备无水乙醇、溶菌酶（用于革兰氏阳性菌）。
 - ✓ 第一次使用 Buffer WB2 前按照试剂瓶标签的说明加入无水乙醇。
1. 取 0.5-2 ml 细菌培养液（最多不超过 2×10^9 个细胞），10,000 rpm (~11,500×g)离心 1 min，尽可能的吸弃上清，收集细菌沉淀。
注意：起始处理量可以根据细菌密度、种类、预期产量进行调整。
 2. **革兰氏阴性菌：**向菌体沉淀中加入 **450 μl Buffer LB 和 10 μl RNase A (25 mg/ml)**，涡旋振荡 1 min 裂解菌体（**不要有菌体团块**），**室温**放置 10 min，进行操作步骤 3。
革兰氏阳性菌：先进行溶菌酶破壁处理（如不确定为何种菌属，请按处理革兰氏阳性菌的方法进行）。向菌体沉淀中加入 200 μl 溶菌酶缓冲液（20 mg/ml)*，吸打重悬菌体，37℃温育 30-60 min，12,000 rpm (~13,400×g)离心 2 min，吸弃上清。向菌体沉淀中加入 **450 μl Buffer LB 和 10 μl RNase A (25 mg/ml)**，涡旋振荡 1 min 裂解菌体（**不要有菌体团块**），**室温**放置 10 min，进行操作步骤 3。
注意：1)*溶菌酶干粉用 Buffer EB 溶解，配制成 20 mg/ml；或者菌体直接用 200 μl Buffer EB 重悬后，用枪头挑取少许溶菌酶加入。
2) 对于大部分的革兰氏阳性菌，使用溶菌酶可以有效裂解，但对于金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌等葡萄球菌破壁时，还应加入少量的溶葡萄球菌酶帮助破壁。
 3. 加入 **230 μl 无水乙醇**，颠倒混匀（此时可能会出现沉淀），将得到的溶液和可能产生的沉淀一起转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns AC）中，12,000 rpm 离心 1 min，倒弃废液。
 4. 向吸附柱 AC 中加入 **500 μl Buffer WB1**，12,000 rpm 离心 30 sec，倒弃废液。
 5. 向吸附柱 AC 中加入 **600 μl Buffer WB2**（使用前请确认是否已加入无水乙醇!），12,000 rpm 离心 30 sec，倒弃废液。
 6. 重复步骤 5。
 7. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，弃掉收集管和废液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会降低洗脱效率，影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，可以将吸附柱开盖放置几分钟，以彻底晾干残余乙醇。
 8. 将吸附柱 AC 放入新的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 **50-100 μl Buffer EB**，室温放置 3-5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集 DNA 溶液。-20℃保存 DNA。
注意：如果要提高 DNA 的终浓度，可以使用小于 100 μl EB 洗脱，也可以将步骤 8 所得的 DNA 溶液重新加至吸附膜上，再次离心洗脱。如果预期 DNA 的量小于 1 μg，推荐使用 50 μl Buffer EB 进行洗脱。
-