

6. 把 DNA Mini Column 装在 2 mL 收集管中。转移第五步获得的混合液 (包括沉淀) 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer AW1 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer AW2 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer AW2 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。12,000 x g 离心 3 分钟。
11. 将柱子装在新的 1.5 mL 离心管中。加入 30~100 μ L 预热至 70°C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟, 12,000 x g 离心 1 分钟。
12. (可选) 再加入 30~100 μ L 预热至 70°C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟, 12,000 x g 离心 1 分钟。
13. 弃去柱子, 把 DNA 保存于-20°C。

常见问题

1. 柱子堵塞

- 样品用量太多: 减少样品用量。
- 消化液存在不溶解的物质: 若样品消化后仍存在明显的颗粒, 于12,000 x g 离心3分钟去除未消化的物质。

2. DNA 产量低

- 洗脱不充分: 洗脱液需加到膜中央, 增加洗脱体积或次数。

3. DNA 纯度不达标

- Proteinase K 活性下降: 重新制备Proteinase K。使用后Proteinase K 立即保存于-20°C。
- 加入Buffer DL 后混匀不充分: 重新提取, 加入Buffer AL 后立即颠倒混匀3-5次, 然后以最高速度涡旋让样品与Buffer AL 充分混匀。

4. RNA 污染

- 延长 RNase 消化时间。



EasySC DNA Purification Kit from bacteria

细菌 DNA 提取试剂盒

(离心柱型)

产品概述

EasySC DNA Purification Kit from bacteria采用硅胶柱纯化方式, 简化的细菌DNA提取流程。整个过程无需酚氯仿抽提, 也无需耗时的醇类沉淀。试剂盒适合于从各种细菌样品中高效提取DNA, 纯化的DNA可直接用于PCR, 酶切, Southern杂交等。

产品特点

- ❖ 重复性好 - 硅胶柱纯化技术, 每次都能获得理想的结果;
- ❖ 高纯度 DNA - 得到的 DNA 可直接用于各种下游应用;
- ❖ 快速 - 简化的流程, 可在 20 分钟内完成数个样品的提取工作(消化后);
- ❖ 广谱性 - 可处理各种细菌, 包括难裂解的革兰氏阳性细菌;
- ❖ 安全 - 无需酚氯仿抽提, 无需醇类沉淀。

适用范围

从细菌培养液中提取细菌 DNA。

ABP Biosciences Inc

安迪福诺生物科技(武汉)有限公司

地址: 武汉市东湖新技术开发区高新大道666号

光谷生物城生物创新园C2-4栋五楼

电话: 400-066-7718 邮箱: info@abpbio.com

网址: www.abpbio.com www.abpbio.com.cn



试剂盒组分

Kit Component	D119-1 (50 preps)	D119-2 (200 preps)
Buffer ATL	15 mL	60 mL
Buffer DL	15 mL	60 mL
Buffer AW1*	15 mL	60 mL
Buffer AW2*	15 mL	50 mL
Buffer AE	15 mL	50 mL
Proteinase K (20 mg/mL)	1.1 mL	4.4 mL
Lysozyme	100 mg	400 mg
Mini Column	50	200
2 mL Collection Tube	50	200

* Buffer AW1, Buffer AW2 使用前须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

保存条件

本试剂盒除 Proteinase K 外, 可在室温保存 12 个月。Proteinase K 室温运输, 收到试剂盒后请保存于-20°C。Buffer ATL 和 Buffer DL 放置时可能会有沉淀出来, 使用时须加热至 55°C 使沉淀消失。

实验准备

在使用之前, 请仔细阅读本说明书, 以便熟悉每一步的操作。

- 按瓶子标签所示, 加入适量的无水乙醇至 Buffer AW1, Buffer AW2 中, 于室温保存。
- 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。
- 准备 10 mg/mL 的 RNase A。
- 准备 Lysozyme 裂解液: 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 2 mM EDTA, 1.2% Triton X-100, 加 Lysozyme 至终浓度 20 mg/mL, 于 2-8°C 保存。
- 所有离心均在室温下进行。

实验步骤

方案 1. 革兰氏阴性细菌 DNA 抽提

- 转移 0.5-1 mL 细菌培养液 (1.5×10^9 个细菌) 至 1.5 mL 离心管中。10,000 x g 离心 1 分钟收集细菌, 倒弃培养液。
- 加入 230 μ L Buffer ATL 和 20 μ L Proteinase K, 涡旋混匀。65°C 温浴 30 分钟, 期间需颠倒混匀几次或振荡温浴。
- (可选) 如果需要去除 RNA, 可加入 20 μ L RNase A (10 mg/mL) 溶液 (客户自备), 颠倒混匀, 室温或 37°C 放置 15 分钟。
- 加入 250 μ L Buffer DL 至消化液中, 最高速度涡旋 20 秒。65°C 水浴 10 分钟。
- 加入 250 μ L 无水乙醇至消化液中, 涡旋混匀 15~20 秒。
Note: 加入乙醇时如有沉淀形成, 用移液枪吸打 5~10 次打散沉淀。
- 把 DNA Mini Column 装在 2 mL 收集管中。转移第五步获得的混合液 (包括沉淀) 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer AW1 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer AW2 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer AW2 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。12,000 x g 离心 3 分钟。
- 将柱子装在新的 1.5 mL 离心管中。加入 30~100 μ L 预热至 70°C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟, 12,000 x g 离心 1 分钟。
- (可选) 再加入 30~100 μ L 预热至 70°C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟, 12,000 x g 离心 1 分钟。
- 弃去柱子, 把 DNA 保存于 -20°C。

方案 2. 革兰氏阳性细菌 DNA 抽提

- 转移 0.5-1 mL 细菌培养液 (1.5×10^9 个细菌) 至 1.5 mL 离心管中。10,000 x g 离心 1 分钟收集细菌, 倒弃培养液。
- 加入 150 μ L Lysozyme 裂解液, 涡旋混匀。37°C 温浴 30 分钟, 期间需颠倒混匀几次或振荡温浴。
- 加入 20 μ L Proteinase K 和 250 μ L Buffer DL 至消化液中, 最高速度涡旋 20 秒。65°C 水浴 30 分钟。
- (可选) 如果需要去除 RNA, 可加入 20 μ L RNase A (10 mg/mL) 溶液 (客户自备), 颠倒混匀, 室温或 37°C 放置 15 分钟。
- 加入 250 μ L 无水乙醇至消化液中, 涡旋混匀 15~20 秒。
Note: 加入乙醇时如有沉淀形成, 用移液枪吸打 5~10 次打散沉淀。