

核酸提取纯化试剂使用说明书

【产品名称】细菌基因组 DNA 纯化试剂盒（离心柱法）。

英文名称：Surbiopure bacteria DNA Kit。

【包装规格】50T/盒 100 T/盒

【适用范围】各类革兰氏阴性菌和阳性菌等。

【原理】细菌样本经过消化液处理后与裂解结合缓冲液混合，使得细胞破碎并将核酸释放。离心柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，在裂解缓冲液中，能够高效、专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定，可直接用于DNA下游实验。

【组成成份】

货号	Sup-041603-50	Sup-041603-100	主要成分
试剂盒规格	50 T	100 T	
蛋白酶 K	1 mL	2 mL	蛋白酶 K 溶液
RNaseA	1 mL	2 mL	酶溶液
溶菌酶	1 mL	2 mL	酶溶液
Buffer RS	15 mL	30 mL	重悬溶液
Buffer AVL	25 mL	50 mL	强变性剂和 Tris 缓冲液
Buffer WA	20 mL	20 mL	高盐溶液
Buffer WB×2	14 mL	14mL×2	低盐溶液
Buffer DE	10 mL	10 mL	Tris 盐溶液
玻璃珠	15.0 g	30.0 g	玻璃珠（0.1-0.6mm）
吸附柱 A1	50 个	100 个	离心吸附柱（含收集管）
说明书	1 份		

注：请在使用前把RNaseA全部加入至Buffer RS，在Buffer WA中加入30mL的无水乙醇，在Buffer WB中加入56mL的无水乙醇。无水乙醇（分析纯）请用户自备。

【储存注意事项】

- 1、蛋白酶K，溶菌酶，RNaseA等酶溶液请于-20℃保存，若溶液RS中加入RNase A后，请于2-8℃保存；
- 2、除酶以外其他试剂于室温（15-25℃）保存
- 3、试剂盒有效期为12个月，请在有效期内使用。

【适用设备与仪器】

台式离心机

【样本要求】

该试剂盒可以提取各类革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌,样本量不超过 1×10^9 个细菌。

【操作方法】

一、样本前处理：

- 1、取1-4ml过夜培养的菌液（视菌液浓度而定，若是容易长的菌，如枯草芽孢杆菌，浓度高，取1ml即可，否则样品容易糊化），室温下 $13,000 \times g$ 离心1min收集菌体，尽量移除上清。菌液较多时，可以通过多次离心收集菌体；

a. 革兰氏阳性菌处理: 加入20 μ L溶菌酶溶液，震荡混匀，37℃孵育30 min~1 h（水浴锅孵育需每隔5 min颠倒混匀一次）；

b. 革兰氏阴性菌处理: 如果是大肠杆菌、变形杆菌、痢疾杆菌、肺炎杆菌、沙门氏菌、志贺氏菌、副流感杆菌、军团菌等，可以直接进行下一步；

- 2、在处理好的菌体，直接加入300 μ L RS、0.2-0.3g 玻璃珠、20 μ L Proteinase K（20 mg/mL），涡旋震荡5 min，混匀后于56℃水浴孵育10 min；

- 3、12,000 rpm离心10 min，取上清进行下一步；

二、手工离心柱法提取纯化细菌基因组：

- 4、取第3步上清液到新的离心管里，加入500 μ L Buffer AVL和125 μ L的异丙醇（用户自备），充分振荡混匀，将离心管放入56℃金属浴或水浴中15min，期间每隔5min上下颠倒离心管几次，之后小心吸取上清（分两次）至套有2 ml收集管的吸附柱A1中，静置1 min，室温下， $13,000 \times g$ 离心1 min，倒掉收集管中的滤液。

- 5、加入500 μ L 漂洗液WA（使用前请检查是否已加入乙醇），室温下， $13,000 \times g$ 离心1 min，倒掉收集管中的滤液。

- 6、加入600 μ L 漂洗液WB（使用前请检查是否已加入乙醇），室温下， $13,000 \times g$ 离心1

min, 倒掉收集管中的滤液(此步骤重复一次)。

7、室温下, 13,000×g 离心3min, 去除残留在吸附柱A1上的漂洗液。

注意：此步非常重要, 吸附柱A1上残留的乙醇会影响后续的酶切、测序等实验。

8、将吸附柱A1放在一个干净的1.5 ml离心管中, 向硅胶膜中间滴加40-100 μl 洗脱液EB或去灭菌离子水, 室温下静置1 min, 然后13,000×g 离心5 min。

注意：①洗脱液EB的洗脱体积应不少于40 μl, 体积过小会影响基因组的洗脱效率。

② 洗脱液的PH值对于洗脱效率有很大影响, 建议使用洗脱液EB进行洗脱, 也可用PH值在7-8之间的去离子水进行洗脱。

③ 为提高基因组的洗脱效率, 可以将洗脱液EB或去离子水放在60-70℃水浴中, 预热5-8min 后再使用。

9、提取好的基因组置于-20℃保存或者进行下一步实验。

【产品性能参考数值】

纯化的 DNA OD260/OD280 比值: 1.7-2.1。

【产品的局限性】

样本: 样本量建议少于 1×10^9 个细菌。

结果解释: 本试剂盒手工提取的效率可能会比仪器提取稍低, 由于手工操作会有一些的误差造成的。

【注意事项】

如果室温过低, Buffer RS 和Buffer AVL 可能会有少许晶体析出或变浑浊, 放入 55℃ 的水浴中预热 5-10min, 确认溶液澄清后再使用, 对提取效果无影响。

【基本信息】

生产企业: 广州赛百纯生物科技有限公司

地址: 广州市黄埔区瑞发路12号自编三栋四层自编01单位

联系方式: 020-84783894

邮箱: sbctek@163.com

网址: www.surbiopure.com