

MolPure[®] Bacterial DNA Kit 细菌 DNA 提取试剂盒

产品信息

产品名称	产品货号	规格
MolPure [®] Bacterial DNA Kit 细菌 DNA 提取试剂盒	18806ES08	5 T
MolPure [®] Bacterial DNA Kit 细菌 DNA 提取试剂盒	18806ES50	50 T
MolPure [®] Bacterial DNA Kit 细菌 DNA 提取试剂盒	18806ES70	200 T

产品描述

MolPure[®] Bacterial DNA Kit 适用于革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌等基因组 DNA 的提取。离心吸附柱中采用的硅基材料为本公司特有新型材料，配合本公司独特的缓冲液配方可最大限度将细胞代谢物、蛋白等杂质去除。提取的 DNA 纯度高，质量稳定可靠，可适用于各种下游应用实验，如酶切、PCR、文库构建等。

产品组分

类别	编号	组分名称	18806ES08 (5 T)	18806ES50 (50 T)	18806ES70 (200 T)
Part I	18806-A	Proteinase K (20 mg/mL)	100 µL	1 mL	1 mL×4
Part II	18806-B	DNA 吸附柱 B1 (MolPure [®] DNA Column B1)	5 个	50 个	200 个
	18806-C	2 mL 收集管 (2 mL Collection Tube B1)	5 个	50 个	200 个
	18806-D	缓冲液 AC (AC Buffer B1)	500 µL	5 mL	20 mL
	18806-E	裂解液 LB (LB Buffer B1)	3 mL	30 mL	120 mL
	18806-F	结合液 BD (BD Buffer B1)	1 mL	10 mL	40 mL
	18806-G	去蛋白液 PL (PL Buffer B1)	2.5 mL	25 mL	100 mL
	18806-H	漂洗液 W* (Wash Buffer*)	1.3 mL	13 mL	50 mL
	18806-I	洗脱液 (Elution Buffer)	1 mL	10 mL	20 mL

运输和保存方法

Part I 组分冰袋运输，4°C可保存 12 个月，-20°C保存 2 年。

Part II 组分常温运输，常温保存，有效期 12 个月。

注意事项

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. **结合液 BD** 和 **去蛋白液 PL** 低温时可能析出，可 37°C 温浴复溶至溶液澄清，不影响使用效果。两者含有刺激性物质，避免与皮肤等部位直接接触。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
4. 本产品仅作科研用途！

实验前准备

1. 自备设备和试剂：台式离心机、振荡仪、水浴锅或金属浴，1.5 mL 离心管，无水乙醇，异丙醇等。用于革兰氏阳性菌还需准备 Lysozyme (溶菌酶，产品货号：10402ES) 和溶菌酶缓冲液 (20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton X-100)。
2. 所有的离心步骤均在室温完成，使用可以达到 12,000 rpm 转速的传统台式离心机。
3. **首次使用前，在漂洗液 W* (18806-H) 瓶中加入 4 倍体积的无水乙醇，充分混匀后使用，并做好标记。如果发现漂洗液 W* 由于运输或保管不当造成容量严重不准，请用量筒定容后再加入 4 倍体积的无水乙醇。每次使用后将瓶盖盖紧，以保持漂洗液 W* 中的乙醇含量。**

操作方法

一、样本预处理：

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 离心 2 min，弃上清。

【注】：菌体不宜过量，过量会严重降低产量。起始处理量与细菌密度、种类等相关。离心柱最大吸附量为 20 μg 基因组 DNA。

2. 针对革兰氏阴性菌：加入 200 μL 裂解液 LB 重悬，10,000 rpm 离心 30 sec，弃上清。再次加入 180 μL 裂解液 LB，涡旋振荡或吹打重悬。

针对革兰氏阳性菌：加入 180 μL 20 mg/mL Lysozyme（自备，产品货号：10402ES）振荡重悬，37°C 水浴或金属浴 30 min 以上。

【注】：Lysozyme 干粉需要在溶菌酶缓冲液中进行配制，否则会导致其无活性，其工作浓度为 20 mg/mL。溶菌酶缓冲液配制方法：20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM $\text{Na}_2\text{-EDTA}$; 1.2% Triton X-100。

3. 加入 20 μL Proteinase K (20 mg/mL)，振荡混匀。

4. (选做) 若残留 RNA 对后续实验有影响，可加入 5 μL RNase A (100 mg/mL)（自备，产品货号：10406ES）溶液，振荡混匀，室温放置 5-10 min。

5. 加入 200 μL 结合液 BD，立刻振荡混匀，70°C 水浴或金属浴 10 min。

二、DNA 提取：

1. 将 DNA 吸附柱 B1 套入 2 mL 收集管中，备用。

2. 加入 100 μL 缓冲液 AC 至 DNA 吸附柱 B1 中，12,000 rpm 离心 1 min，弃掉废液。

3. 加入 100 μL 异丙醇（自备）至上述冷却后的样本预处理混合液中，立即振荡混匀，短暂离心收集管盖内的液体。

【注】：可能会形成絮状沉淀，属于正常现象。

4. 将上述混合物加入 DNA 吸附柱 B1 中，12,000 rpm 离心 1 min，弃掉废液。

5. 加入 500 μL 去蛋白液 PL，12,000 rpm 离心 30 sec，弃掉废液。

6. 将 DNA 吸附柱 B1 放回收集管中，加入 600 μL 漂洗液 W*，12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液。

【注】：确保漂洗液 W* 已添加无水乙醇。

7. 重复一遍步骤 6。

8. 将 DNA 吸附柱 B1 放回收集管，空柱 12,000 rpm 室温离心 2 min，以除去残留的漂洗液 W*。

9. 将 DNA 吸附柱 B1 放入新的 1.5 mL 离心管中，在 DNA 吸附柱 B1 中央加入 30-100 μL 洗脱液，室温放置 5 min。然后 12,000 rpm 离心 1 min。收集滤液，即为 DNA 溶液。

【注】：可通过以下方式提高回收产量：①65°C 预热洗脱液；②将 DNA 滤液再次上柱，室温放置 2 min 后，洗脱。

10. DNA 溶液可置于 -20°C 长期保存。