

# 凯基细菌基因组DNA小提试剂盒

说明书修订日期：2015.11.01

Cat Number: KGA2550/KGA25100

Store at 4℃/RT

For Research Use Only (科研专用)

## 一、试剂盒说明

凯基细菌基因组DNA快速操作简便快捷，无需使用苯酚、氯仿等有毒试剂，产物纯度高；使用优化的缓冲液，促进DNA吸附的同时，去除蛋白质、RNA和多糖类杂质。从1ml过夜培养的细菌菌液可以获得10~30μg DNA，OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>比值一般为1.7-1.9。提取出的DNA可用于酶切、PCR、文库构建、Southern blot等相关实验。

### 产品特点

与传统细菌DNA提取方法相比较，本试剂盒具有以下特点：

- 操作简便——在≤1 小时内即可从样品中提取到所需基因组DNA；
- 使用安全——这是一个没有有毒试剂污染的操作过程；
- 质量可靠——提取所得的DNA 纯度好，回收率高；
- 价格便宜——价格优惠，质量可与同类进口产品媲美，价格/性能比高。

## 二、试剂盒组份

组份	KGA2550, 50T	KGA25100, 100T	储存
消化液	24ml	48 ml	RT
PB buffer	12 ml	24 ml	RT
TE buffer(pH8.0)	10 ml	20 ml	RT
酶裂解液	10ml	20 ml	RT

## 三、保存方法及注意事项

本试剂盒于常温运输，室温（15℃~25℃）干燥保存，有效期见包装，于4℃保存时间更长。

消化液中含有刺激性化合物，操作过程中应穿上实验服，戴好乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服，防止吸入口鼻。沾染皮肤或眼睛后，请立即用清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医生的帮助。

## 四、自备材料

水浴锅、小型高速离心机（最大离心力≥12000×g、1.5ml 离心管

75%乙醇、异丙醇、RNase A 溶液、TE Buffer（10mM Tris-HCl,1mM EDTA, pH8.0）

消化液低温可能出现沉淀，如有沉淀，可以在65℃溶解后使用。

## 五、标准操作步骤

提前将水浴锅调至65℃备用。

### 1. 样品处理

- 革兰氏阴性细菌：取1ml过夜培养的细菌菌液，加入1.5ml离心管中，室温8,000 rpm离心1min，弃上清，收集菌体。加入400μl消化液，震荡混匀。65℃水浴1h至细胞完全裂解。
- 革兰氏阳性细菌：取1ml过夜培养的细菌菌液，加入1.5ml离心管中，室温8,000 rpm离心1min，弃上清，收集菌体。加入180μl溶菌酶溶液（使用前将相应的溶解酶加入到酶裂解液中，配制成20mg/ml的溶菌酶溶液）重悬菌液，37℃水浴30~60min，再加入400μl消化液，震荡混匀。65℃水浴1h至细胞完全裂解。

**注意：** 水浴过程中，每10 min颠倒混匀1次，可促进样品裂解。混合液变澄清透明为裂解完全。如溶液未变澄清，说明样品裂解不彻底，应当适当延长水浴时间，否则将可能降低DNA的得率或导致提取的DNA不纯。

如需得到无RNA 的DNA，可以在水浴后加入20 $\mu$ l 的RNase A（10mg/ml），室温放置2~5 分钟。

2. 加入200 $\mu$ l 的PB buffer，充分颠倒混匀，-20 $^{\circ}$ C冰箱放置5min。
3. 室温10,000rpm 离心5min，将上清液（500~550 $\mu$ l）转移至新的1.5ml 离心管中。若上清液混浊，可以再加入等体积氯仿，12,000rpm 离心取上清。
4. 加入等体积的异丙醇，颠倒5~8 次使之充分混匀，室温放置2~3min。室温10,000rpm 离心5min，弃上清。
5. 加入1ml 75%乙醇，颠倒漂洗1~3min，10,000rpm 离心2min，弃上清。**注意：**漂洗时一定要使沉淀悬浮起来。
6. 重复步骤5一次。
7. 开盖室温倒置5~10min 至残留的乙醇完全挥发。

**注意：**

此步绝不可省略，否则残余的乙醇会严重影响得率和后续实验。

如果残留的乙醇有挂壁现象，倒掉液体后再短暂离心，将残液用移液器吸出。然后开盖室温放置5~10min至残留的乙醇完全挥发。

8. 将得到的DNA 用50~100 $\mu$ l TE buffer 溶解。提取的DNA 可用于下一步实验或者-20 $^{\circ}$ C冻存。

**产量与质量的决定因素**

总DNA 的产量可由分光光度法计算并用双蒸水、Tris-HCl 或DNA 洗脱液作空白对照。DNA 浓度可按以下公式计算： $[\text{DNA}] = \text{A}260 \times (0.05\mu\text{g}/\mu\text{l}) \times \text{稀释倍数}$ 。

DNA的质量可通过比较在260nm和280nm处的吸光度估计得到。A260/A280 的比率在1.7~1.9 就相当于85%~95%的纯度。

## 六、凯基相关产品（详见凯基网站<http://www.keygentec.com.cn>）

### 1. 核酸提取纯化试剂

质粒提取试剂盒

基因组DNA 提取试剂盒

DNA 回收试剂盒

RNA 提取试剂

### 2. PCR/RT-PCR 实验相关产品

PCR 产品

反转录酶

RT-PCR 试剂盒

PCR/RT-PCR 辅助试剂

DNA 分子量Marker 以及电泳辅助试剂

### 3. 基因克隆产品以及生化酶制剂

超级感受态细菌制备试剂盒

T4 连接酶/生化酶

KeyGenTrans 交联型聚阳离子转染试剂