

# **Biospin Bacteria Genomic DNA Extraction Kit**

## **Biospin 细菌基因组DNA 提取试剂盒**

**TECHNICAL SUPPORT:**

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5215 or 5211, or fax to 0086-571-87774553

Email to [reagent@bioer.com.cn](mailto:reagent@bioer.com.cn).

**Website: [www.bioer.com.cn](http://www.bioer.com.cn)**

## 试剂盒组成

货号	BSC12S1	BSC12M1
试剂盒组成	50 人份	100 人份
Proteinase K	0.5ml	1ml
EL Buffer	5ml	10ml
RS Buffer	5 ml	10 ml
GA Buffer	10 ml	20 ml
BA Buffer	10ml (使用前加入 10.5ml 无水乙醇)	20ml (使用前加入 21ml 无水乙醇)
G Binding Buffer	25ml	50ml
Wash Buffer	21ml (使用前加入 31.5ml 无水乙醇)	42ml (使用前加入 63ml 无水乙醇)
Elution Buffer	10ml	20ml
Spin column	50	100
说明书	1 份	1 份

## 储存条件

- ◆ 除 PK Solution 保存于 2-8℃ 外，其余保存于室温（15-25℃）。
- ◆ 所有试剂可稳定保存 18 个月。

## 简介

本产品采用了一套基因组DNA提取试剂系统，提供了一套从各种细菌中提取基因组DNA的简单、快速、经济的方法，提取的细菌包括革兰阳性和革兰阴性细菌。该方法是以选择性 Biospin 膜系统为基础，可以在1小时以内完成如基因组DNA这样的高分子量DNA的提取纯化。该方法的步骤简单，不需使用特殊的昂贵设备，而且完全避免了与一些有毒试剂的接触（如酚、氯仿等）。通常，使用本产品从  $5 \times 10^9$  个细菌中最多可以提取 30  $\mu$ g 的基因组DNA。

提取纯化后的 DNA，可以直接用于 PCR/Real time PCR, sequencing, Southern blot, mutant analysis, SNP 等下游应用实验。

## 原理

首先收集好的细菌在EL缓冲液中酶解，接着通过RS Buffer和PK Solution的裂解作用，基因组DNA被释放出来。在加入GA缓冲液并离心之后，杂质被去除。然后，在随后加入的BA Buffer 和G Binding Buffer中适当的盐分及pH值的作用下，DNA被特异吸附于Biospin膜上。通过洗涤，可将蛋白质等残留的杂质去除。最后使用Elution Buffer将DNA从膜上洗脱下来，从而获得基因组DNA。

## 需要的配套设备和材料

- \* 无菌1.5ml离心管
- \* 各种规格移液器和无菌移液器吸头
- \* 离心机（最大转速>14,000g）
- \* 无水乙醇
- \* 漩涡振荡器

## 注意事项

1. 对于革兰氏阴性细菌（可选做此步骤），第一次使用前，称取158mg溶菌酶，加入EL Buffer, 左右摇晃10-15次，大约30秒，直至溶液清亮，2~8℃保存。  
对于革兰氏阳性细菌：第一次使用前，称取158mg溶菌酶，加入EL Buffer, 左右摇晃10-15次，大约30秒，直至溶液清亮，2~8℃保存。
2. 请在第一次使用前，向BA Buffer中加入乙醇(无水)并混合均匀。
3. 请在第一次使用前，向Wash Buffer中加入乙醇(无水)并混合均匀。
4. 为了保证最优化的提取效果，细菌细胞数最大不超过 $5 \times 10^9$ ，OD600在1.0~2.0之间。
5. 如果RS Buffer 中出现浑浊或沉淀，请于56℃环境中适当温育，待浑浊物质消失后再使用。

## 操作步骤

- 1 收集细菌，取0.5-4ml细菌(最多 $5 \times 10^9$ 个细菌)，13,000 x g 离心一分钟，弃上清。尽可能吸净上清。
- 2 加入100 μl EL Buffer，使用tip头吹打均匀。
- 3 37℃温育10-60分钟。  
**注意：对于革兰氏阴性细菌，可将温浴时间缩短至10-15分钟，对革兰阳性细菌，可将温育时间延长至30-60分钟。**
- 4 加入100 μl RS Buffer，随后分别加入10 μl PK Solution，充分混匀。可选：加入2 μl RNase A (20mg/ml) 并混匀。  
**注意：对于部分革兰氏阳性细菌和厌氧菌，请加入2 μl RNase A (20mg/ml)，混合充分将有助于裂解。**
- 5 于56℃环境中温浴15分钟，然后移出。对难于裂解的样本请适当延长温浴时间。
- 6 加 200 μl GA Buffer 并混合均匀。
- 7 于 13,000 x g 离心1分钟。
- 8 将上清液转移到一个新的1.5ml离心管。  
**注意：如果上清中出现无色粘稠物质，请全部转移到新离心管内。**
- 9 加 400 μl 的 BA Buffer，并混合均匀。
- 10 将混合液体转移至Spin column。于13,000 x g离心1分钟， 并弃去接液管中液体。
- 11 向 Spin column中加入500 μl的G Binding Buffer。于 10,000 x g 离心1分钟， 并弃去接液管中液体。
- 12 向 Spin column 中加入500 μl的Wash Buffer。于 10,000 x g 离心1分钟， 并弃去接液管中液体。
- 13 重复步骤12的操作一次。
- 14 再次将Spin column于10,000 x g 离心1分钟，并将Spin column转移至一个新的1.5ml离心管。
- 15 向 Spin column 中加入100 μl Elution Buffer，并于室温温育1分钟。
- 16 于10,000 x g 离心1分钟，并弃去Spin column。1.5ml离心管中液体含有DNA。
- 17 提取的DNA可直接用于各种下游应用实验，如不立即使用，请于-20℃保存。

## 常见问题及对策

### 1 细菌提取的种类

A 绝大部分细菌,包括革兰阳性细菌和革兰阴性细菌,可有效破碎细菌细胞结构。

### 2 RS buffer 有混浊怎么办?

A 请充分摇匀。

### 3 RNase A 是否一定需要?

A 建议使用.但具体情况视实验目的而定,如果提取的基因组 DNA 进行 PCR 扩增,酶切等普通分子生物学下游实验,则不需加入,如果对 DNA 纯度要求比较高,可以加入一定量的 RNase A 以保证 RNA 被充分消化。

### 4 提取过程中有有机溶剂吗?

A 不需要。

### 5 提取的细菌基因组片段大小是多少?

A 本试剂盒提取的基因组 DNA 片段大小在 20-150kb 之间。

### 6 提取的基因组 DNA 量很少是怎么回事?

A 需要注意的问题主要有以下几点。

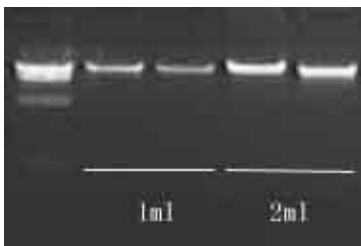
- 1) 请确认细菌处于生长旺盛的对数生长期;
- 2) 确认 EL Buffer 中已经加入了溶菌酶并充分混匀;
- 3) 加入 EL Buffer 后,将离心管底部的细菌团块充分打散.保证足够温育时间;
- 4) 确保提取的其它过程严格按照说明书的要求进行;

### 7 提取的细菌数量在什么范围内?

A 一般情况下,液体培养基培养的细菌在对数生长期时的细菌数量约为  $10^7 \sim 10^8$ /ml 之间,最大提取的细菌数量为  $5 \times 10^9$ .如果使用固体培养基培养请进行细胞计数。细菌数量较少时请注意富集。

## 数据分析举例:

### 实验 1: 提取 1ml/管和 2ml/管的细菌基因组 DNA



### 实验 2: 提取 G+革兰氏阳性细菌 DNA, G-:提取革兰氏阴性细菌 DNA

