

天
净
沙
系
列

CAT#:60802-50

常温运输及保存（溶菌酶需低温运输）

TIANDZ

柱式细菌 DNA_{OUT}

Column Bacterial DNA_{OUT}

使用手册 V2.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	本产品是在天泽基因在天净沙细菌 DNA_{OUT} 基础上开发的柱式升级产品，可以用于绝大多数革氏阳性和阴性细菌基因组 DNA 的快速提取。 1. 操作简单，整个过程不到 20 分钟。 2. 产率一般在 5-20 ug/mL 过夜培养的饱和菌液（10⁸-10⁹ 个细胞）。 3. OD260/280 一般在 1.8 以上，可直接用于 PCR、酶切、杂交等实验。 4. DNA 片段长度一般在 40-50 Kb 左右。 5. 每次提取可以处理 0.1-1.5 mL 的细菌，也可以使用菌落。 6. 价廉物美，与国外同类产品相比质量相当，但价格便宜。 7. 安全无毒，本试剂盒对人体无害，无腐蚀性和刺激性气味。			
规格及成分		成 份	编 号	大纸盒包装
		溶菌酶干粉	100406	600 mg
		溶液 A	60802A	15 mL
		溶液 B	60802B	7.5 mL
		溶液 C	60802C	30 mL
		离心吸附柱	60911	50 套
		通用洗柱液	60408	50 mL
		DNA 洗脱液 2.0	111205	10 mL
		使用手册	60802sc	1 份
运输及保存	常温运输及保存（溶菌酶干粉需要 4℃或-20℃保存），有效期一年。			
自备试剂	氯仿、自备无菌水。			
使用方法	注意：溶液 A 和溶液 B 容易产生沉淀，溶液 B 十分粘稠，均需要放置在 65℃预热使沉淀溶解、粘稠度降低，用前充分摇匀。 一：对革氏阴性细菌样品， 不需用溶菌酶 1. 将 0.1-1.5 mL 过夜培养的菌液转移到 1.5 mL 塑料离心管中， 12,000 rpm 室温离心 1 分钟沉淀细菌，弃上清。 2. 加入 300 uL 预热的溶液 A 到细菌沉淀中，充分吹打均匀。 3. 再加入 150 uL 预热的溶液 B 到离心管中，颠倒数次混匀。此时溶液中可能有白色丝状悬浮物产生。由于溶液 B 比较粘稠，可以采取称量方法取用，150 uL 约等于 150-160 mg。也可以将 1 mL 枪头剪去一截再吸取。 4. 65℃放置 3-5 分钟。如果室温放置，DNA 产量会降低 10-20%。			

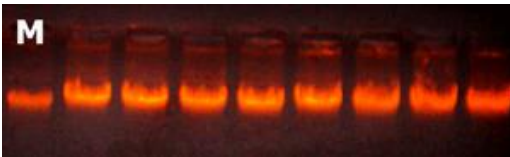
5. 加入 200 uL 自备氯仿，震荡混匀 10-30 秒，此时溶液将呈乳白色。
6. 12,000 rpm 室温离心 2 分钟。此时上清液将变得透明，中间层有白膜。小心转移上清液到一个新的 1.5 mL 塑料离心管中，避免触及中间层的白膜。
7. 加入 1.5 倍体积(约 0.7 mL)的溶液 C，颠倒混匀后全部转移到离心吸附柱中，室温放置至少 2 分钟。
8. 12,000 rpm 室温离心 1 分钟，DNA 将吸附在离心吸附柱的膜上，倒弃收集管中的穿透液。
9. 将 0.5 mL 通用洗柱液加入离心柱中，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃穿透液。
10. 重复上步操作一次。
11. 空甩半分钟去除残留液体,将离心吸附柱转移到新的 1.5 mL 离心管中。
12. 加 50-100 uL 通用洗脱液，室温放置 3-5 分钟。
13. 12,000 rpm 室温离心 1 分钟即得 DNA 溶液。
14. 由于本产品使用的离心吸附柱吸附 DNA 的能力较强，可以重复上步操作一次以便得到更多的 DNA。
15. 直接取 5-10 uL 电泳检测 DNA，其余放冰箱备用。

二：对革氏阳性细菌样品，需用溶菌酶

1. 将 0.1-1.5 mL 过夜培养的革氏阳性细菌 12,000 rpm 室温离心 1 分钟后，重悬于 0.6 mL 溶菌液中（溶菌液配制:30 mL 无菌水+600 mg 溶菌酶，配制后最好分装成小管并放-20℃长期保存，每次只用一小管），颠倒混匀 5-10 次后放 37℃保温至少 30 分钟(有的革氏阳性菌种可能需更长时间，需要自己根据不同的细菌摸索)。
2. 12,000 rpm 室温离心 10 分钟，小心弃上清。
3. 后续处理接上面的革氏阴性细菌提取步骤中的第 2 步。

三：其他注意事项

1. 可以直接使用细菌菌落提取 DNA，操作时直接将细菌菌落挑入到溶液 A 中，后续操作同上。
2. 从单个菌落中提取到的 DNA 较少，所以只用 30 uL 通用洗脱液洗脱。

使用效果	 图注:用本产品提取 1.0 mL 过夜培养的 <i>E.coli</i> Tg1 细菌, DNA 最后溶于 100 uL TE 中, 取 20 uL 上样。 M 表示全长的 λ DNA,其余均为提取的样品 DNA。																																	
背景资料	<table><tr><th colspan="3">G+和 G-细菌细胞壁比较</th></tr><tr><th>细胞壁特性</th><th>革氏阴性菌</th><th>革氏阳性菌</th></tr><tr><td>厚度</td><td>10 nm</td><td>20-80 nm</td></tr><tr><td>细胞膜层数</td><td>2</td><td>1</td></tr><tr><td>肽聚糖 (Peptidoglycan) 含量</td><td>10-20%</td><td>>50%</td></tr><tr><td>磷壁酸 (Teichoic acid)</td><td>无</td><td>有</td></tr><tr><td>脂及脂蛋白含量</td><td>58%</td><td>0-3%</td></tr><tr><td>蛋白含量</td><td>9%</td><td>0%</td></tr><tr><td>脂多糖 (Lipopolysaccharide) 含量</td><td>13%</td><td>0</td></tr><tr><td>对青霉素敏感性</td><td>低</td><td>高</td></tr><tr><td>对溶菌酶 (Lysozyme) 敏感性</td><td>低</td><td>高</td></tr></table>	G+和 G-细菌细胞壁比较			细胞壁特性	革氏阴性菌	革氏阳性菌	厚度	10 nm	20-80 nm	细胞膜层数	2	1	肽聚糖 (Peptidoglycan) 含量	10-20%	>50%	磷壁酸 (Teichoic acid)	无	有	脂及脂蛋白含量	58%	0-3%	蛋白含量	9%	0%	脂多糖 (Lipopolysaccharide) 含量	13%	0	对青霉素敏感性	低	高	对溶菌酶 (Lysozyme) 敏感性	低	高
G+和 G-细菌细胞壁比较																																		
细胞壁特性	革氏阴性菌	革氏阳性菌																																
厚度	10 nm	20-80 nm																																
细胞膜层数	2	1																																
肽聚糖 (Peptidoglycan) 含量	10-20%	>50%																																
磷壁酸 (Teichoic acid)	无	有																																
脂及脂蛋白含量	58%	0-3%																																
蛋白含量	9%	0%																																
脂多糖 (Lipopolysaccharide) 含量	13%	0																																
对青霉素敏感性	低	高																																
对溶菌酶 (Lysozyme) 敏感性	低	高																																
关联产品	一步式细菌 DNAout (CAT#:60806)																																	