**细菌基因组DNA提取试剂盒**

**（磁珠法）**

**货号：KTSM2625**

**■ 产品简介：**

本试剂盒采用独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统，从细菌中分离纯化高质量基因组DNA。独特包埋的磁珠，在一定条件下对核酸具有很强的亲和力，而当条件改变时，磁珠能够释放吸附的核酸，能够达到快速分离纯化核酸的目的。整个过程不涉及酚、氯仿等有机试剂，安全、快捷。通过多次漂洗操作后所得DNA纯度高，质量稳定可靠。

**■主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2625（50次）** |
| 裂解液LA | 15 ml |
| 缓冲液GA | 15 ml |
| 洗涤液I | 30 ml |
| 洗涤液II | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 蛋白酶K | 1 ml |
| 磁珠悬浮液 | 0.6 ml |

**■保存条件**：

室温（15-25℃）

**■自备试剂**：

无水乙醇，异丙醇。

**■ 注意事项：**

1. 尽量选用新鲜过夜培养细菌，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降；
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在洗涤液II中加入相应的无水乙醇。

**■ 操作步骤：**

**1. 裂解**

（1）取细菌过夜培养液1 ml，室温下12,000 rpm离心1 min，尽量吸尽上清。

（2）由于细菌来源不同，请按下面2a、2b进行操作。

1. 革兰氏阴性菌：加入240 µl裂解液LA悬浮菌体；
2. 革兰氏阳性菌加入220 µl裂解液LA重悬菌体，加入20 µl浓度为50 mg/ml的溶菌酶充分摇匀，37℃放置30 min；

**注：如需去除RNA，可在加入裂解液LA时，加入4 µl浓度为100 mg/ml的RNase A溶液，震荡混匀，室温放置几分钟。**

（3）加入20 µl蛋白酶K和260 µl缓冲液GA，充分摇匀，将离心管置于70℃温浴10 min，其间颠倒离心管混匀样品数次。

**2. 结合**

加入260 µl异丙醇，充分混匀，加入振荡混匀的磁珠10 µl，室温下颠倒混匀5 min。然后将 EP 管置于磁力架上进行磁分离，将EP管连同磁力架上下翻转几次，保证管盖上无磁珠残留，开盖，吸弃废液（吸净管盖及管底残液）。

**3. 洗涤**

（1）加入500 µl洗涤液Ⅰ，点振5～10次（若磁珠有结块现象，加大震荡力度和洗涤时间，尽量使磁珠分散），然后将 EP 管置于磁力架上进行磁分离，将 EP 管连同磁力架上下翻转几次，保证管盖上无磁珠残留，开盖，吸弃废液，（吸净管盖及管底残液）；

（2）加入500 µl洗涤液II，点振5～10次（若磁珠有结块现象，加大震荡力度和洗涤时间，尽量使磁珠分散），然后将 EP 管置于磁力架上进行磁分离，将 EP 管连同磁力架上下翻转几次，保证管盖上无磁珠残留，开盖，吸弃废液，（吸净管盖及管底残液）；重复上述步骤一次；

（3）将 EP 管置于磁力架上，晾干10 min，根据室内温度和湿度可适当延长或缩短晾干时间。或用无菌风吹干，可有效减少晾干时间。

**4. 洗脱**

加入100-200 µl洗脱液EB，缓慢抽吸混匀，65℃温育10 min。每隔2～3 min轻摇 EP 管几下混匀。温育结束后，将离心管置于磁力架上进行磁分离，抽取上层清液保存于新的离心管中，进行下游实验，如不能及时进行下游试验，DNA样本可保存于-20℃。