



(DP302) 细菌基因组DNA 提取操作指南

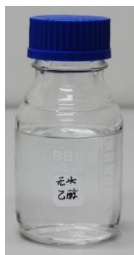
天根生化科技（北京）有限公司

版本号：20240725

WWW.TIANGEN.COM

实验准备

1. 培养菌液1-5 ml （本实验以革兰氏阴性菌为例，革兰氏阳性菌前处理详见说明书）
2. 移液器及配套无菌枪头（200 μ l，1 ml），1.5 ml 离心管
3. 无水乙醇
4. 涡旋振荡器，金属浴/水浴，台式离心机



实验准备-试剂盒准备

使用前先在漂洗液PW和GD中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。



Step 1

取细菌培养液1-5 ml, 10,000 rpm($\sim 11,500 \times g$)
离心1 min, 尽量吸净上清。向菌体沉淀中加入
200 μ l缓冲液GA, 振荡至菌体彻底悬浮。



Step 2



加入220 μ l缓冲液GB和 20 μ l Proteinase K，充分颠倒混匀

Step 3



70°C放置10 min，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

Step 4



加入220 μl 无水乙醇，充分振荡混匀15 sec，此时可能会出现絮状沉淀，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

Step 5



将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱CB3中



12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$)离心30 sec, 倒掉收集管中的废液,将吸附柱CB3放入收集管中

Step 6



12,000 rpm (~13,400 × g) 离心30 sec,
倒掉收集管中的废液,
将吸附柱CB3放入收集管中。

向吸附柱CB3中加入500 μl缓冲液GD
(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)

Step 7



12,000 rpm (~13,400 × g) 离心 30 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱CB3放入收集管中。

向吸附柱CB3中加入600 μl 漂洗液PW
(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)

Step 8 重复操作步骤7。

Step 9

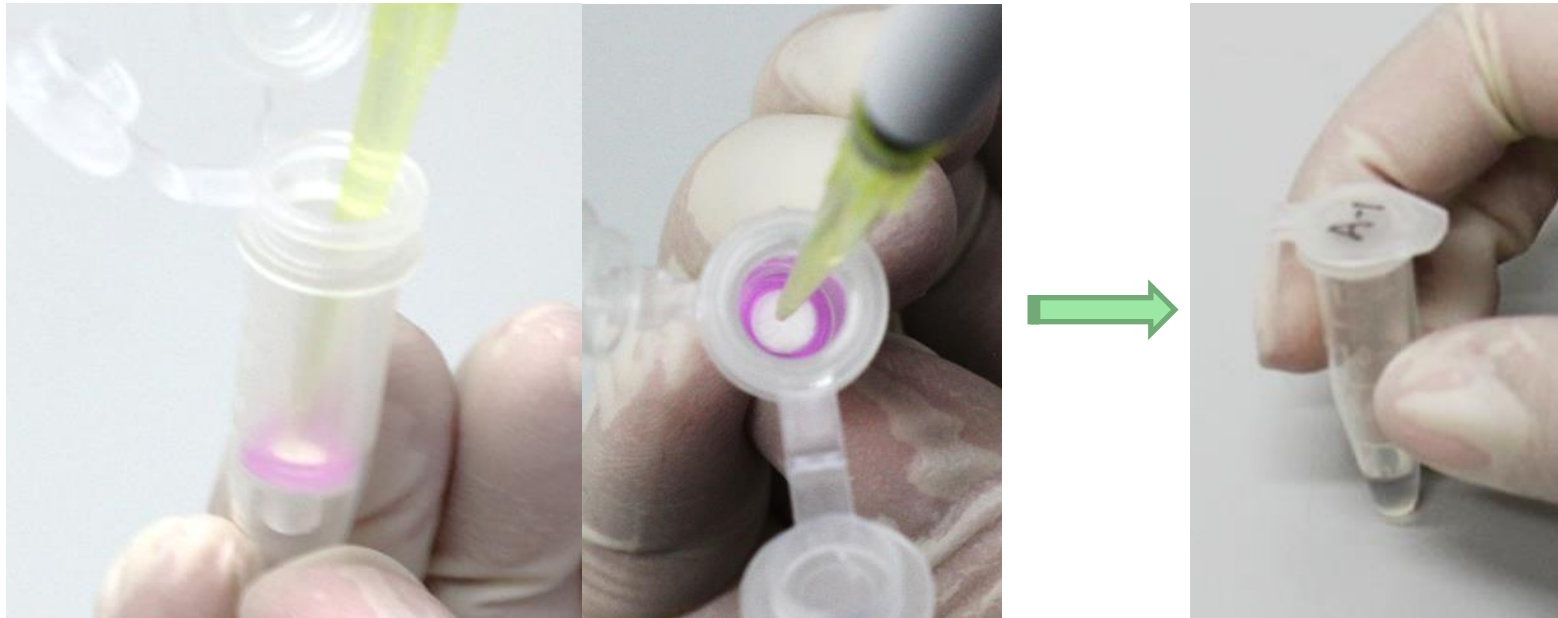


12,000 rpm (~13,400 × g) 离心 2 min, 倒掉废液。

吸附柱CB3室温放置 2 min
彻底晾干吸附材料中残余
的漂洗液。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

Step 10



将吸附柱CB3转入1.5 ml离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加50-200 μ l 洗脱缓冲液TE，室温放置2 min，12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$)离心2 min，将溶液收集到离心管中。