

# GNM 细菌基因组 DNA 提取（离心柱法）试剂盒（50T）说明书

【产品名称】GNM 细菌基因组 DNA 提取（离心柱法）试剂盒（50T）

【产品货号及规格】

货号	规格
TQ-D082-1	50T/盒

【产品介绍】本试剂盒采用可特异结合 DNA 的离心吸附柱和独特的缓冲液体系可以用于快速提取细菌的基因组 DNA。提取得率高，稳定性好。使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于酶切、PCR、文库构建等各种常规实验操作。

【产品组分】

序号	组成	50T/盒
1	Buffer ALJ	10mL
2	Buffer AJH	115mL
3	蛋白酶 k	1mL
4	洗脱液	5mL
5	离心柱	50 个/包
6	收集管	50 个/包

【保存条件及有效期】 4-25°C，室温避光保存，有效期 2 年。

【运输条件】 4-25°C，室温运输

【操作步骤】

## 一、实验准备

1. 自备材料：小型高速离心机（最大离心力  $\geq 12,000 \times g$ ）、1.5 mL 离心管、溶菌酶、RNA 酶、恒温混匀仪、涡旋仪。

## 二、样本处理

取 1mL 细菌培养液（约  $10^6$ ~ $10^9$  个菌）于 1.5mL 离心管，12,000 rpm (~13,400xg) 离心 1 min，收集细菌沉淀，尽量吸除上清（菌液较多时可以通过几次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中）。

注意：对于破壁难度较大的革兰氏阳性菌，可在离心后的菌体沉淀加入特定缓冲液（该缓冲液由 20mM Tris-HCl、pH8.0；2mM Na<sub>2</sub>-EDTA；1.2% Triton 组成），涡旋 10s 使菌体充分重悬；

## 三、核酸提取

1. 加入 200uL Buffer ALJ 及 50uL 溶菌酶（50mg/mL）溶液（客户自备）振荡重悬菌体沉淀，37°C 孵育 30min；

注意：根据菌体数量的不同，所用溶菌酶的浓度及孵育时间可进行适当调整。

2. 加入 5uL RNA 酶（10mg/mL）溶液（客户自备），室温放置 5min；

3. 加入 20uL 蛋白酶 k (20mg/mL)，上下颠倒混匀，恒温混匀仪 70°C 1200rpm 孵育 10min；
4. 加入 500uL Buffer AJH，上下颠倒混匀，进行瞬时离心，去除管盖内壁水珠；
5. 将上一步所得溶液全部转移至离心柱中（注意离心柱需预先放入收集管中），室温放置 1min。将装有样本的离心柱放入离心机中，以 12,000rpm (~13,400xg) 离心 1min。离心结束后小心倒掉收集管中的废液，将离心柱放回原收集管中；
6. 向离心柱中加入 600uL Buffer AJH, 12,000rpm (~13,400xg) 离心 1min，倒掉废液后，将离心柱放回收集管。**重复此步骤两次：**  
将经过三次洗涤的离心柱放回收集管中，以 12,000rpm (~13,400xg) 离心 2min，尽量去除离心柱中的残留液体。离心结束后，将离心柱从收集管中取出，置于室温下放置 5-10min，使吸附材料中残余的 Buffer 彻底挥发干燥；
- 注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，晾干时要确保乙醇挥发干净。切勿干燥过久，以免影响后续洗脱效果。
7. 将干燥后的离心柱转移至新的 1.5mL 离心管中，使用移液器向吸附膜的中间部分悬空滴加 100uL 洗脱液。室温放置 2-5min，使洗脱液与吸附膜上的核酸充分接触，促进核酸洗脱。以 12,000rpm (~13,400xg) 离心 2min，此时，含有核酸的洗脱液会被收集到离心管中。
8. 核酸保存：基因组 DNA 溶液转移至新的离心管中待用。如果不立即使用，请存储于-15~-25°C，长期保存请放置于-70°C或更低的温度。

#### 【注意事项】

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

#### 【基本信息】

生产企业名称/售后服务单位：北京金诺美科技股份有限公司

住所：北京市北京经济技术开发区经海四路 25 号院 16 号楼-01-5 层

联系方式：010-67880228

【说明书版本及修改日期】本说明书已正式发布，本次修订日期为 2025 年 11 月 6 日。

【免责声明】本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其他用途。