公司产品仅供科研研究使用，不得用于临床诊断！

产品名称：**单核增生李斯特菌基因组DNA**

英文名称：Genomic DNA from Listeria monocytogenes

规格：5μg/支

货号：PJZ803

基本信息：

单核增生李斯特菌基因组DNA培养基	蛋白胨：10.0，牛肉粉：3.0，氯化钠：5.0，琼脂：15.0，pH值：7.3±0.1(25℃)
传代方法	使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签； 1.取细菌培养液1-5ml，10,000rpm(11,500×g)离心1min，尽量吸净上清； 2.向菌体沉淀中加入200μL缓冲液GA，振荡至菌体彻底悬浮。注意：对于较难破壁的革兰氏阳性菌，可略过第2步骤，加入溶菌酶溶液进行破壁处理，具体方法为：加入110μL缓冲液（20mM Tris,pH8.0；2mM Na2-EDTA；1.2%Triton），和70μL溶菌酶溶液，37℃处理30min以上。如果需要去除RNA，可加入4μL RNase A（100mg/mL）溶液，振荡15sec，室温放置5min； 3.向管中加入20μL Proteinase K溶液，混匀； 4.加入220μL缓冲液GB，振荡15sec，70℃放置10min，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠。注意：加入缓冲液GB时可能会产生白色沉淀，一般70℃放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯； 5.加220μL无水乙醇，充分振荡混匀15sec，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； 6.将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱CB3中（吸附柱放入收集管中），12,000rpm(13,400×g)离心30sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中； 7.向吸附柱CB3中加入500μL缓冲液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm(13,400×g)离心30sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中； 8.向吸附柱CB3中加入600μL漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm(13,400×g)离心30sec，倒掉废液，吸附柱CB3放入收集管中； 9.重复操作步骤8； 10.将吸附柱CB3放回收集管中，12,000rpm(13,400×g)离心2min，倒掉废液。将吸附柱CB3置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验； 11.将吸附柱CB3转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-200μL洗脱缓冲液TE，室温放置2-5min，12,000rpm(13,400×g)离心2min，将溶液收集到离心管中。注意：洗脱缓冲液体积不应少于50μL，体积过小影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用ddH2O做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱CB3中，室温放置2min，12,000rpm(13,400×g)离心2min；
生长条件	37℃；18-24h；好氧；
存储条件	2-8℃

安全等级	0
共享方式	公益性共享