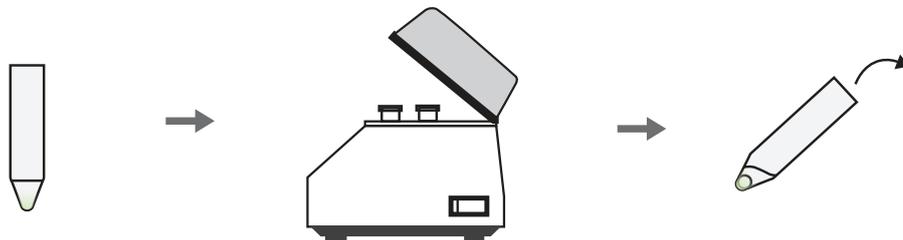


# E.coli基因组DNA的提取

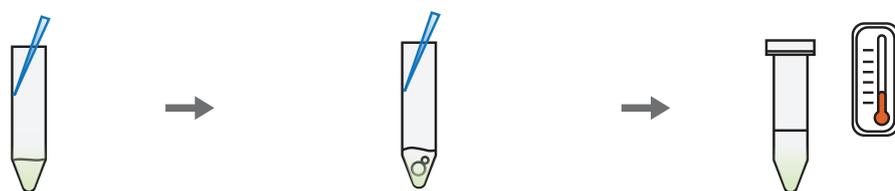
## 实验步骤

### 1. 酚-氯仿法

1 1mL E.coli菌体发酵液, 10000r/min离心1min, 去上清液。



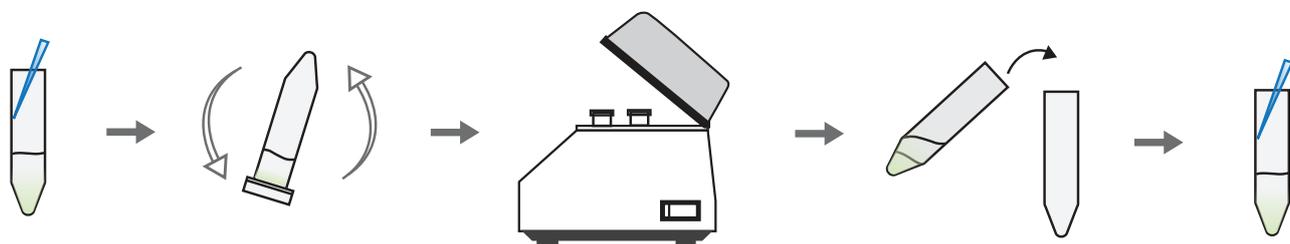
2 加750 $\mu$ L溶液 I , 悬浮沉淀, 并加溶菌酶使其终浓度为1mg/mL, 37 $^{\circ}$ C保温0.5h。



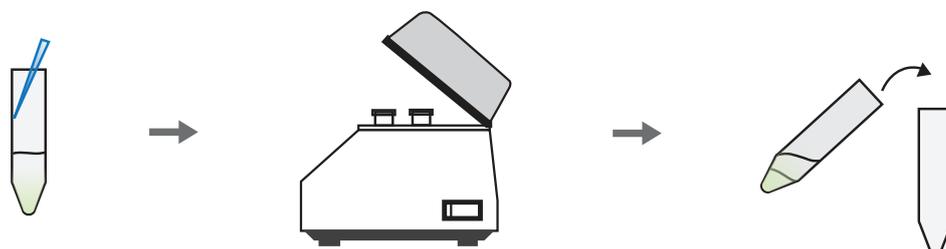
3 悬液中加入蛋白酶K溶液, 使其终浓度为0.1mg/mL, 混匀, 55 $^{\circ}$ C保温1h。



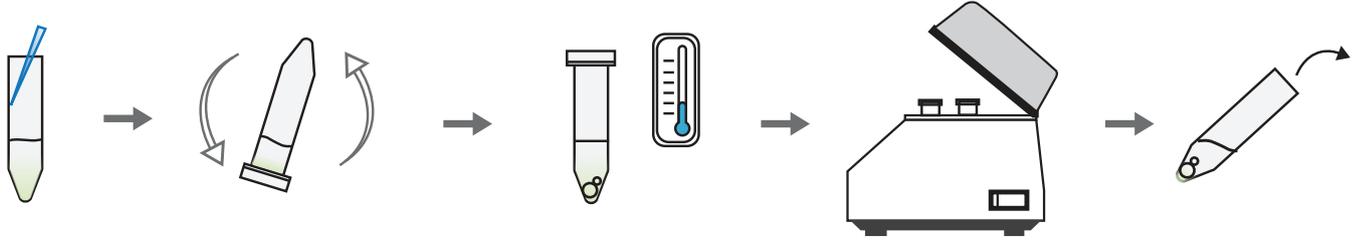
4 加入等体积苯酚/氯仿/异戊醇上下颠倒混匀, 10000r/min离心5min, 将上清液移至干净离心管中, 然后再用等体积苯酚/氯仿/异戊醇抽提一次。



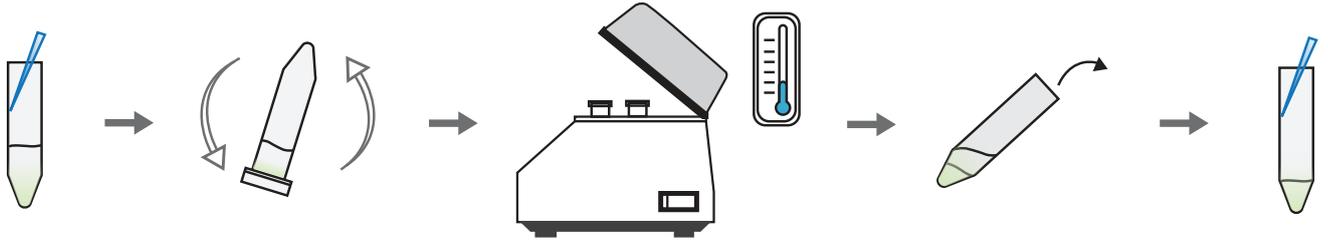
5 用等体积氯仿/异戊醇抽提, 10000r/min离心5min, 取上清液移至干净离心管中。



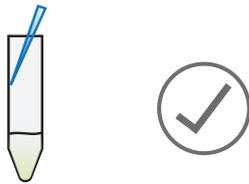
- 6 加等体积异丙醇，颠倒混合，-20℃静置20min，沉淀DNA，10000r/min离心5min，弃上清液。



- 7 DNA沉淀加入1mL 70%乙醇吹打混匀，4℃10000r/min离心5min，弃上清液，风干乙醇，溶解于50μL的TE缓冲液中。



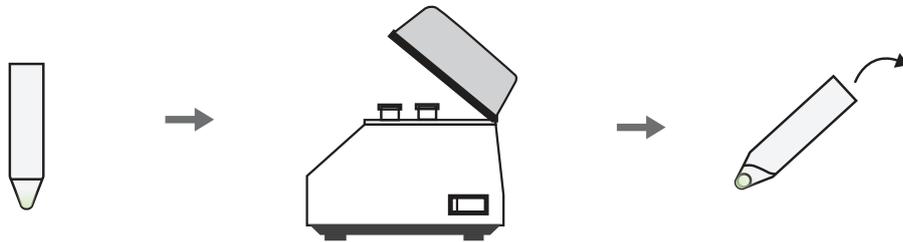
- 8 最后贮存液中加入1μL RNase A溶液，终浓度为20μg/mL。



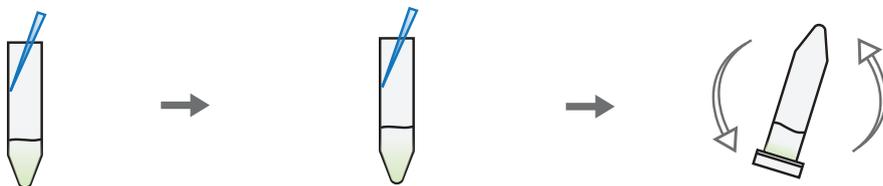
## 2. 商品试剂盒法 (按商品说明书操作即可)

### 3. 磁珠法

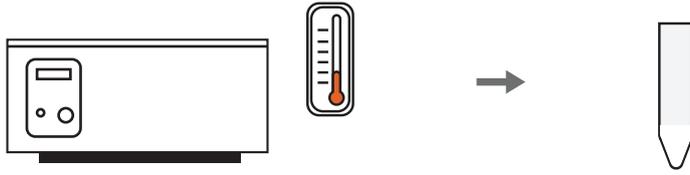
- 1 1mL E.coli菌体发酵液，10000r/min离心1min，去上清液。



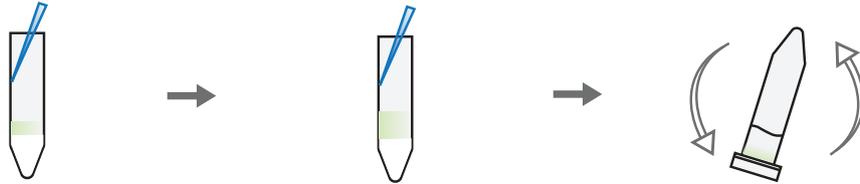
- 2 加450μL TE缓冲液并充分悬浮，并加入50μL、0.1g/mL (质量浓度) 的SDS溶液，颠倒混合2~3次。



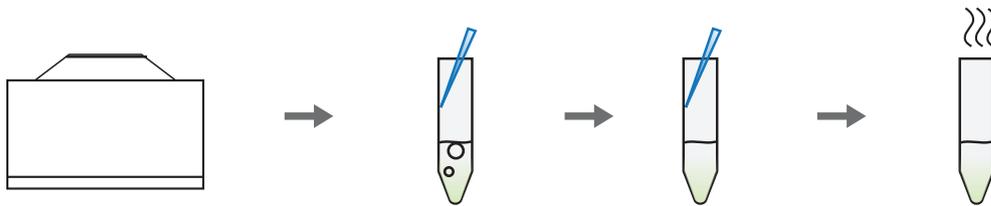
3 50°C温浴90s, 悬液显示白色黏稠状。



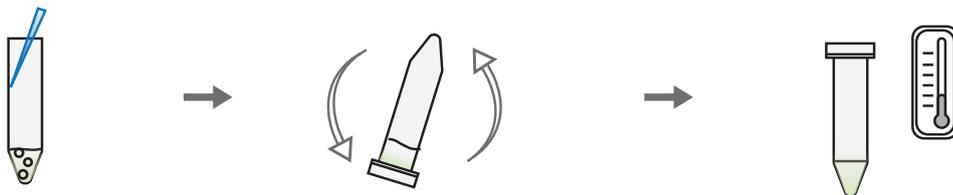
4 50μL 100mg/mL (TE缓冲液悬液) 磁性粒子加入到上述悬液中, 再加入500μL的DNA结合液, 轻柔颠倒混合几次, 室温保持3~5min。



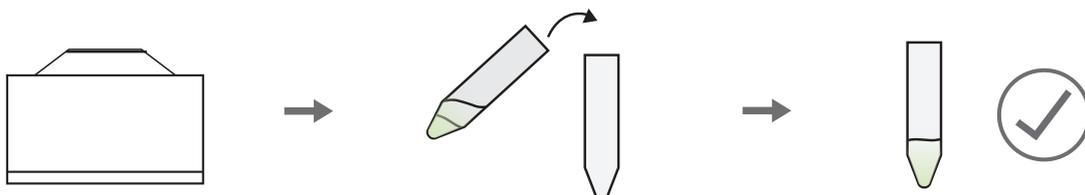
5 磁性分离, 磁性粒子用95%乙醇洗涤、70%乙醇洗涤之后, 室温下风干。



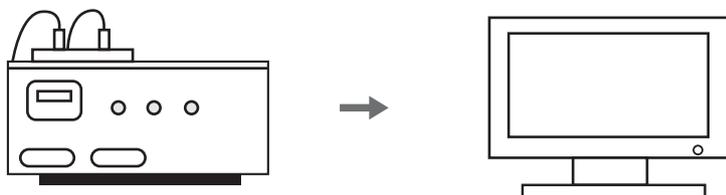
6 磁性粒子悬浮在30μL的TE缓冲液中, 轻柔颠倒几次, 室温保持10min。



7 磁性分离, 上清液转移到新的离心管中, 即为E.coli基因组DNA。



8 DNA的TE缓冲液0.7%琼脂糖凝胶电泳, 拍照。



9 DNA的TE缓冲液稀释一定倍数后,测定OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>和OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub>,以确定DNA含量和质量。

