

FlaPure Bacteria Genomic DNA Extraction Kit

细菌基因组DNA提取试剂盒

货号

DE113-50

产品组成

组分	规格（50 次）
Buffer GB1	15 mL
Buffer GB2	15 mL
Buffer GW1	13 mL
Buffer GW2	15 mL
Buffer TE	15 mL
Proteinase K (20 mg/mL)	1.0 mL
FlaPure DNA Columns	50 个
Collection Tubes(2.0 mL)	50 个

保存条件

Proteinase K 于-20℃保存，其他组分常温（10~25℃）保存 12 个月。

产品简介

本试剂盒可从各种细菌（革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌）中快速提取高质量的基因组DNA，每次可处理 $10^6\sim10^8$ 个细胞。试剂盒采用优化的缓冲体系，使裂解液中的DNA高效特异地结合到硅基质吸附柱上。提取过程无需使用苯酚或氯仿等有毒试剂，得到的DNA 浓度和纯度高，可直接用于酶切、PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

产品特点

- DNA质量高：提取的DNA浓度和纯度较高，适用于对浓度、纯度和完整性要求较高的下游实验；
- 安全低毒：无需酚、氯仿等有毒试剂。

本产品仅供科研使用

适用范围

本品适用于细菌样本的基因组DNA提取。

注意事项

1. 第一次使用前，分别在Buffer GW1和Buffer GW2 中加入17 mL和60 mL的无水乙醇；
2. 使用前请检查Buffer GB1和Buffer GB2 是否出现沉淀，如有请于56℃水浴溶解后使用；
3. 若下游实验受RNA影响较大，可按照操作说明在相应步骤加入RNase A；
4. 如果提取次生代谢产物大量积累或细胞壁厚的细菌培养物的基因组，建议在对数生长期早期收集样品。

使用方法

1. 取细菌培养物 1~5 mL ($10^6 \sim 10^8$ 个细胞，最多不超过 2×10^9 个细胞，太多会导致吸附柱堵塞，降低浓度和纯度) 置于离心管(自备)中，10,000 rpm ($\sim 11,500 \times g$) 离心 1 min，尽量吸净上清；
2. 向菌体沉淀中加入 200 μ L Buffer GB1，振荡使菌体彻底重悬；

注意：

- a. 对于难破壁的革兰氏阳性菌，可省去步骤2，加入180 μ L溶菌酶溶液处理。(溶菌酶溶液配制：70 μ L溶菌酶溶液(50 mg/ml，自备)+110 μ L缓冲液(20 mM Tris pH=8.0; 2 mM $\text{Na}_2\text{-EDTA}$; 1.2% Triton X-100)，37℃ 孵育 30 min以上；
 - b. 如需去除 RNA，可在上述步骤完成后，加入 4 μ L 浓度为 100 mg/mL 的 RNase A 溶液，振荡混匀15 s，室温放置 5 min。
3. 加入 20 μ L Proteinase K，混匀；
 4. 加入220 μ L Buffer GB2，振荡15 s，70℃孵育10 min，溶液应变清亮，短暂离心以去除管盖内壁水珠；

注意：加入Buffer GB2可能会产生白色沉淀，70℃孵育后一般会消失，不影响后续实验。若溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能会导致提取的DNA量少且不纯；

5. 加入 200 μ L 无水乙醇，涡旋震荡充分混匀；短暂离心去除管盖内壁的水珠；
6. 将步骤 5 所得溶液(包括形成的沉淀)全部加入已装入收集管的吸附柱(FlaPure DNA Columns)中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$) 离心 30 s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中；
7. 向吸附柱中加入 500 μ L Buffer GW1(使用前检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm 离心30 s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中；
8. 向吸附柱中加入 600 μ L Buffer GW2(使用前检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm 离心30 s，倒掉收集管中的废液；

9. 重复步骤8;

10. 将吸附柱重新放回收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 倒掉收集管中废液。开盖于室温晾干数分钟;

注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶促反应(酶切、PCR 等)。

11. 将吸附柱置于一个新的离心管(自备)中, 向吸附柱的膜中间部位悬空加入 50~200 μ L Buffer TE 或灭菌水, 室温放置 2~5 min, 12,000 rpm 离心 2 min, 收集 DNA 溶液, -20°C 保存 DNA。

注意:

a. 若需增加产量, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 室温放置 2~5 min, 12,000 rpm 离心1 min;

b. 如果下游实验对pH值或EDTA敏感, 可以用灭菌水洗脱。洗脱液的pH值对洗脱效率有较大影响, 若用水作洗脱液应保证其pH值在7.0~8.5(可以用NaOH将水的pH值调到此范围), 如需长期保存, 推荐用Buffer TE洗脱并于-20°C保存。

常见问题与解决办法

Q1: 柱子堵塞?

A1:

1) 菌液用量过多或样品裂解不充分。建议按照说明书推荐量进行提取;

2) 离心温度过低。本产品使用操作均在室温下进行。

Q2: DNA 得率低?

A2:

1) 菌液用量过多或过少。建议按照说明书推荐量进行提取;

2) 菌液不新鲜。建议提取新鲜或活力较高的菌液(如对数期细菌)。

Q3: 后期实验受RNA影响?

A3:

1) 未加入RNase A消化。若后续实验需要去除RNA影响, 可按照说明书步骤加入RNase A消化;

2) 样品中RNA含量过多。可适当增加 RNase A用量或延长消化时间。

Q4: 结果显示蛋白残留较多?

A4:

菌液量过多。建议减少菌液量或重复步骤7一次即可。