



# FlaPure Bacteria Genomic DNA Extraction Kit

## 细菌基因组DNA提取试剂盒

### 目录号

DE703-50

### 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°C保存, 其他组分常温 (10~25°C) 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  $10^6 \sim 10^8$  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°C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（目录号：GP708）；
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  $2\times 10^9$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ L溶菌酶溶液处理。（溶菌酶溶液配制：70  $\mu$ L溶菌酶溶液（50 mg/ml，自备）+110  $\mu$ L缓冲液（20 mM Tris pH=8.0；2 mM  $\text{Na}_2$ -EDTA；1.2% Triton X-100），37°C 孵育 30 min以上；
  - b. 如需去除 RNA，可在上述步骤完成后，加入 4  $\mu$ L 浓度为 100 mg/mL 的 RNase A 溶液（自备，目录号：GP708），振荡混匀15 s，室温放置 5 min。
3. 加入 20  $\mu$ L Proteinase K，混匀；
  4. 加入220  $\mu$ L Buffer GB2，振荡15 s，70°C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°C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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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。