

版本号: FDI1228

## FinePure Bacteria DNA Kit

### FinePure 细菌基因组柱式提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: FD702

**产品内容:**

产品组成	FD702 (50 preps)
Buffer DA	15 ml
Buffer DLT	15 ml
Buffer DW1	13 ml
Buffer DW2	12 ml
Buffer TB	15 ml
Proteinase K	1.2 ml
DNAPure Spin Columns	50 个
2 ml Collection Tubes	50 个
1.5 ml RNase Free Microcentrifuge Tubes	50 个

**储存条件:**

本试剂盒可置于室温(15-25°C)干燥条件下保存 12 个月。使用前请检查 Buffer DA 和 Buffer DLT 是否出现结晶或者沉淀, 如有结晶或者沉淀, 请将 Buffer DA 和 Buffer DLT 于 37°C 水浴重新溶解。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

---

## 产品简介:

本试剂盒适合从各种来源的细菌培养液(革兰氏阳性或革兰氏阴性)中快速简单地提取基因组 DNA。提取的基因组 DNA 片段大, 纯度高, 稳定性好, 可直接用于 PCR、酶切和杂交等实验。提取过程无需酚氯仿抽提, 从正处于指数生长期的细菌培养液中收集细菌, 细菌经溶菌酶去除细胞壁, 裂解液和 Proteinase K 共同消化细胞, 在优化的结合条件下可与 DNAPure Spin Columns 结合, 经过快速充分的洗涤去除残留的蛋白质和盐分等杂质, 最后 DNA 溶解于 Buffer TB 中。

## 注意事项:

1. 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在 Buffer DW1 和 Buffer DW2 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

## 操作步骤:

**使用前请先在 Buffer DW1 和 Buffer DW2 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。**

1. 取 1-5 ml 培养菌液, 12,000 rpm 离心 1 min 收集菌体, 尽可能吸弃上清。
2. 菌体裂解:
  - 2a. 对于革兰氏阴性菌: 加入 200  $\mu$ l Buffer DA 至菌体沉淀, 振荡至沉淀彻底悬浮。
  - 2b. 对于革兰氏阳性菌: 重悬于 0.6 ml 溶菌液中 (溶菌液配制: 30 ml 超纯水+600 mg 溶菌酶(客户自备, 目录号: FA102-01), 配制后最好分装成小管并放-20 $^{\circ}$ C 长期保存, 每次只用一小管), 颠倒混匀 5-10 次后放入 37 $^{\circ}$ C 孵育至少 30 min(有的革氏阳性菌种可能需更长时间, 需要自己根据不同的细菌摸索)。
3. (可选) 如果需要去除 RNA, 可加入 4  $\mu$ l RNase A (10 mg/ml) 溶液(客户自备, 目录号: FA101-02), 振荡混匀, 室温放置 5 分钟。
4. 加入 20  $\mu$ l Proteinase K, 涡旋振荡混匀, 再加入 220  $\mu$ l Buffer DLT, 充分颠倒混匀, 70 $^{\circ}$ C 孵育 10 min, 短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。

**注意: 加入 Buffer DLT 时可能会产生白色沉淀, 一般 70 $^{\circ}$ C 孵育时会消失, 不会影响后续实验。**

5. 加入 220  $\mu$ l 无水乙醇, 混匀 (此时可能会出现沉淀), 将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱 DNAPure Spin Columns (吸附柱放在收集管中), 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃去

---

滤液，将吸附柱放回收集管中。

6. 加入 500  $\mu$ l Buffer DW1(使用前请先加入无水乙醇)至吸附柱, 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。
7. 加入 500  $\mu$ l Buffer DW2(使用前请先加入无水乙醇)至吸附柱, 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。
8. 重复操作步骤 7 一次。
9. 12,000 rpm 离心 3 min, 倒掉收集管中的废液。
10. 将吸附柱转入一个新的 1.5 ml 离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 60-200  $\mu$ l Buffer TB, 室温放置 1 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 得到 DNA 溶液。

**注意: Buffer TB 体积不应少于 60  $\mu$ l, 体积过小影响回收效率。如用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内(可用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)。DNA 溶液请于 -20 $^{\circ}$ C 保存。**