



KT Bacteria Genomic DNA Extraction Kit

细菌基因组 DNA 提取试剂盒

目录号

MG-TQ-11

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 次

保存条件

Proteinase K 于-20℃保存，其他组分常温（15~30℃）保存 15 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、SouthernBlot、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；

适用范围

本品适用于细菌样本的基因组 DNA 提取。

本产品仅供科研使用



注意事项

- 1.第一次使用前，分别在 BufferGW1 和 Buffer GW2 中加入 17mL 和 60mL 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 RNaseA；
- 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 1~5mL ($10^6 \sim 10^8$ 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, 10,000rpm ($\sim 11,500 \times g$) 离心 1min, 尽量吸净上清；
- 2.向菌体沉淀中加入 200 μ L BufferGB1, 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 (50mg/ml, 自备) + 110 μ L 缓冲液 (20mM Tris pH=8.0; 2mM Na₂-EDTA; 1.2 % TritonX-100)，37°C 孵育 30min 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 100mg/mL 的 RNaseA 溶液，振荡混匀 15s，室温放置 5min。

3. 加入 20 μ L ProteinaseK, 混匀；
4. 加入 220 μ L BufferGB2, 振荡 15s, 70°C 孵育 10min, 溶液应变清亮, 短暂离心以去除管盖内壁水珠；

注意：加入 BufferGB2 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 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 DNAColumns) 中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心 30s, 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 BufferGW1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 30s, 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 BufferGW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 30s, 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，12,000rpm 离心 2min, 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 2~5min，12,000rpm 离心 2min，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 2~5min，12,000rpm 离心 1min；
- 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 RNaseA 消化。若后续实验需要去除 RNA 影响，可按照说明书步骤加入 RNaseA 消化；
- 2) 样品中 RNA 含量过多。可适当增加 RNaseA 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。