

NiFast 小量细菌基因组 DNA 提取试剂盒(柱型)

生产厂家：北京艾比根生物技术有限公司 订货/技术支持 QQ:1492876083 仅供科学研究使用！

订购货号：

产品名称	目录号	规格	价格
NiFast 小量细菌基因组 DNA 提取试剂盒(柱型)	ND1062	100 次	680 元

产品简介：

裂解液直接加入 LB 培养菌体，通过高效蛋白沉淀液沉淀蛋白，然后通过结合液调节结合条件，高离子盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，漂洗液将细胞代谢物，蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。得到的 DNA 比传统试剂盒纯度更高，可直接用于酶切、转化、测序及 PCR 等分子生物学实验。

产品特点：

- 快速：节省时间，可重复性好。
- 简单：操作简单，步骤少。

储存条件和保质期：室温（15-25℃）放置，可保存 18 个月。

试剂盒组成：

试剂盒组成	保存	100 次
裂解液 NB	室温	40mL
沉淀液 NC	室温	20ml
结合液 ND	室温	50mL
漂洗液 WB	室温	20mL 使用前请加入指定量的无水乙醇（4 倍）并标记！
洗脱缓冲液 EB	室温	10mL
吸附柱 CB3 &收集管（2mL）	室温	100T
说明书	室温	1 份

使用前准备：

1. 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
2. 需自备无水乙醇或 95%乙醇。如需消化 RNA 可自备 RNA 酶；G+阳性菌提取需自备溶菌酶。
3. 开始实验前根据需要将水浴锅或干热器预热到 37℃或者 65℃备用。

操作步骤:

1. 取 500 μL 过夜培养菌液 (OD₆₀₀=4-5) 放入离心管, 加入 100 μL 裂解液 NB, 上下混匀菌体。**提示:** 对于革兰氏阳性菌 (G⁺): 可加入 20 μL 溶菌酶 (50mg/mL) 颠倒混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 20 分钟。如果菌体浓度太低可多次离心收集后补足 TE 或培养菌液至 500 μL , 旋涡重悬菌体。
2. 将离心管 65 $^{\circ}\text{C}$ 放置 5min, 直到溶液变成澄清透明粘稠液体。**提示:** 如果不变澄清表明裂解不充分, 应当减少起始菌体用量。如果 RNA 残留较多, 需要去除 RNA, 可以加 10 μL RNase A (20mg/ml) 溶液混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 放置 5min。
3. 冷却后缓慢加入 250 μL 沉淀液 NC, 在涡旋振荡器上高速连续振荡混匀 30 秒, 混匀后可能见到一些小的分散蛋白团块。
4. 12,000rpm 离心 5min, 这时候应该可以见到管底/壁的蛋白沉淀, 也可能见到一些蛋白沉淀漂浮在液体表面。
5. 小心吸取 700 μL 上清到一个新的 1.5mL 离心管中。**提示:** 吸取上清时, 注意不要吸到管底和漂浮在液体表面的蛋白沉淀。如果不小心将蛋白沉淀转入新的离心管中, 可再次离心 2min 后取上清。
6. 缓慢加入 700 μL 等体积的结合液 ND, 涡旋振荡充分混匀, 此时可能会出现絮状沉淀。**提示:** 上述步骤中立刻涡旋或者吹打充分混匀非常重要, 混匀不充分严重降低产量, 必要时如样品粘稠不易混匀时可以涡旋振荡 15 秒混匀。如果要提高产量可以多吸取更多上清, 并增加结合液的量, 保持等体积, 分几次上柱子。
7. 将上一步混合物分 2 次 (每次 700 μL) 加入吸附柱 CB3 中 (吸附柱放入收集管中), 12,000 rpm 离心 1min, 倒掉收集管中的废液。
8. 加入 500 μL 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm 离心 1min, 弃掉废液。
9. 加入 500 μL 漂洗液 WB, 12,000 rpm 离心 1min, 弃掉废液。
10. 将吸附柱 CB3 放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 1min, 尽量除去漂洗液, 以免残留乙醇抑制下游反应。取出吸附柱 CB3, 放入一个干净的离心管中, 在吸附膜的中间部位加 50 μL 洗脱缓冲液 EB, 室温放置 2min, 12,000 rpm 离心 1min。**提示:** 洗脱体积越大, 洗脱率越高, 如果需要高浓度 DNA, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于 30 μL , 体积过小会降低 DNA 洗脱效率, DNA 产量减少。DNA 可以存放在 4 $^{\circ}\text{C}$; 如果要长时间存放, 可以放置在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 或 -80 $^{\circ}\text{C}$ 。