

## 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  $\mu\text{L}$  过夜培养菌液 (OD<sub>600</sub>=4-5) 放入离心管, 加入 100  $\mu\text{L}$  裂解液 NB, 上下混匀菌体。**提示:** 对于革兰氏阳性菌 (G<sup>+</sup>): 可加入 20  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$ , 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  $\mu\text{L}$  RNase A (20mg/ml) 溶液混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$  放置 5min。
3. 冷却后缓慢加入 250  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$ ) 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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$ , 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 $^{\circ}\text{C}$ 。