

碘化钠缓冲液

(pH 8.0)

货号: HKR049

【产品信息】

产品名称	产品货号	规格	有效期
碘化钠缓冲液 (pH 8.0)	HKR049	100mL	一年

【产品简介】

在基因操作实验中,选择缓冲液的主要原则是考虑DNA的稳定性及缓冲液成分不产生干扰作用。DNA反应时,不同的酶对辅助因子的种类及数量要求不同,有的要求高离子浓度,有的则要求低盐浓度,采用Tris-HCl (pH 8.0)的缓冲系统,由于缓冲液是Tris H⁺/Tris,不存在金属离子的干扰作用,故在提取或保存DNA时,大都采用Tris-HCl系统。Tris-HCl (pH 8.0)提供一个缓冲环境,防止核酸被破坏,EDTA螯合Mg²⁺或Mn²⁺离子,抑制DNase活性,加入NaI可以破坏核膜并使DNA从核蛋白中解离。

本产品为碘化钠缓冲液 (pH 8.0),产品主要成分为 10mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mMEDTA, 4M NaI,由无菌水配制,经0.22 μm过滤除菌。

【储存与运输】

常温保存与运输;避光保存,有效期 12 个月。

【使用方法】

1. 扩增噬菌体:
噬菌斑扩增后,挑选分离良好的斑块,在 37°C 下以 250r/min 摇晃培养 4.5-5 小时(不要更长)。
2. 沉淀噬菌体:
 - a. 将培养物转移到微量离心管中,并以最大速度(~20,000 x g)离心 30s。将 500 μl 含噬菌体的上清液转移到新的微量离心管中。
 - b. 加入 200 μl 20% PEG/2.5M NaCl。倒置几次以混合,并在室温下静置 10-20 分钟。
(注:噬菌体感染培养物的上清液可在 4° C 下储存数周,或在加入等体积甘油的情况下,可在 -20° C 下储存数年。加入 PEG/NaCl 的噬菌体仅可以在 4°C 下储存 1 周)
3. 沉淀核酸:
 - a. 以最大速度(~20,000 xg)离心 10s,弃去上清液。噬菌体沉淀可能不可见。
 - b. 通过用力轻敲试管,将沉淀完全悬浮在 100 μl 碘化钠缓冲液中。

- c. 加入 250 μ l 乙醇，在室温下孵育 10-20 分钟。
- d. 4 $^{\circ}$ C 下，在微量离心机中以最大速度旋转 10 分钟，弃去上清液。
- e. 用 0.5ml 70%乙醇(储存在-20 $^{\circ}$ C)清洗沉淀，再次旋转，弃去上清液，并在真空下或工作台上短暂干燥沉淀几个小时。将沉淀悬浮在 30 μ l TE 缓冲液中，储存于 4 $^{\circ}$ C 或-20 $^{\circ}$ C。

4. DNA 测序:

5 μ l 的上述模板溶液足够进行 35S 或 33P 标记的手工双脱氧测序，或染料标记的自动循环双脱氧测序。根据测序方法的不同，适当增减模板用量。

【注意事项】

1. 噬菌体上清是经过两次离心，并吸取上层 80%液体得到，去除菌体。
2. 离心时间准确，不能太长。
3. 沉淀需要完全悬浮在碘化钠缓冲液中。
4. 试剂不宜长时间暴露在空气中，应注意避光，封闭瓶口。
5. 本试剂仅供科研。