

λ噬菌体基因组 DNA 提取试剂盒(PEG 沉淀法)

产品简介：

λ噬菌体是最早使用的克隆载体，其基因组是长度约为 50kb 的双链 DNA 分子，其在宿主细胞由两种生活途径：1、裂解生长：环状 DNA 分子在细胞内多次复制，合成大量噬菌体基因产物，装配成噬菌体颗粒，裂解宿主菌再进行下一次感染；2、溶源性生长：感染细胞内λ噬菌体 DNA 整合到宿主菌染色体 DNA 中与之一起复制，并遗传给子代细胞，宿主细胞不裂解。科研人员常常利用λ噬菌体裂解生长的特点，培养获取大量的λ噬菌体颗粒，并提取λ噬菌体 DNA。噬菌体载体广泛用于文库筛选，目的克隆培养获得大量的噬菌体颗粒需要提取λ噬菌体 DNA 来开展测序等后续工作，λ噬菌体裂解培养物离心后的上清，首先用 RNase A /DNase I 混合酶消化去除残留的宿主菌 DNA/RNA，沉淀收集噬菌体，通过酚异戊醇等提取，残留碎片通过沉淀离心去除，通过一系列快速的漂洗、离心的步骤，将盐、细胞代谢物、蛋白等杂质去除，获得 DNA 的量很高，但是纯度一般，但是足够用于大多数分子生物学实验。

Leagene λ噬菌体基因组 DNA 提取试剂盒(PEG 沉淀法)是简便的λ噬菌体基因组 DNA 的试剂盒，其提取原理是通过 PEG 沉淀、酚异戊醇等提取，残留碎片通过沉淀离心去除，通过一系列快速的漂洗、离心步骤，将盐、细胞代谢物、蛋白等杂质去除，即可获得λ噬菌体基因组 DNA，可进行酶切、PCR 等下游实验。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	编号	NE0210 50T	Storage
试剂(A): RNase A		10mg	-20°C
试剂(B): DNase I		10mg	-20°C
试剂(C): 噬菌体沉淀液		200ml	4°C
试剂(D): SM Buffer		50ml	4°C
试剂(E): 噬菌体裂解液		2ml	RT
试剂(F): 蛋白清除液		100ml	4°C 避光
试剂(G): 噬菌体漂洗液		100ml	RT
试剂(H): TE Buffer		5ml	RT
使用说明书		1 份	

自备材料:

- 1、 离心管、低温离心机、摇床
- 2、 70%乙醇、氯仿

操作步骤(仅供参考): 以下操作以 10ml 噬菌体感染细菌培养上清液为例。

- 1、 准备工作: 向 RNase A 和 DNase I 分别加入 1ml 的 TE Buffer 吹打, 颠倒混匀, 充分溶解 RNase A 和 DNase I 后, 按照每次使用量分装 -20°C 冻存, 6 个月有效。
- 2、 将氯仿滴加到噬菌体感染的液体培养液中(氯仿终浓度在 0.1 ~ 0.5%), 37°C 振荡培养。如观察到裂解发生, 取 12ml 上述培养液转移至离心管, 8000 ~ 10000g 离心, 去除细菌碎片, 取上清液。一般建议 8000g 离心, 如果效果不佳可以考虑 10000g, 但转速过高容易导致噬菌体也沉淀至管底, 降低产量。
- 3、 取上清液, 加入 5 μ l RNase A 和 10 μ l DNase I, 充分混匀, 37°C 培养。注意: 噬菌体培养上清液会因生长和裂解情况不同致使残留的 RNA/DNA 量不液不同, RNase/DNase 消化过度, 可能减少产量; 消化不完全, DNA、RNA 可粘走部分噬菌体, 一般 RNase 可以进行调整, 可根据实际情况适当调节用量和消化时间。
- 4、 向上清液中加入噬菌体沉淀液, 摇匀至溶解, 冰浴。
- 5、 4°C 10000g 离心, 弃上清液。
- 6、 加入 1ml SM Buffer 充分清洗管壁及沉淀, 转移至新的离心管或微量离心管, 加入 40 μ l 噬菌体裂解液, 68°C 培养。
- 7、 加入等体积蛋白清除液, 轻轻混匀, 12000g 离心, 取上清液。
- 8、 (备选步骤) 转移上清液至新的离心管中, 加入等体积预冷的噬菌漂洗液, 轻轻混匀, -20°C 孵育 1h, 4°C 12000g 离心, 弃上清液。
- 9、 加入适量的 70%乙醇溶液, 混匀, 4°C 8000g 离心, 弃上清液; 如果有必要, 可以重复 1 次该清洗步骤。
- 10、 室温自然干燥 DNA, 加入适量 TE Buffer, -20°C 保存; TE buffer 体积越大, DNA 浓度越低。

注意事项:

- 1、 用于裂解的噬菌体、宿主菌越新鲜, 裂解越好、收获量越大。
- 2、 液体培养裂解时, 到了时间裂解还没发生, 可适当的提高温度或加大振摇速度。
- 3、 RNase/DNase 消化过度, 可能减少产量; 消化不完全, 可粘走部分噬菌体。
- 4、 噬菌体裂解液在低温下易结晶析出白色物质, 可 37°C 温浴至完全溶解。
- 5、 试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
- 6、 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6个月有效。

www.leagene.com