

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RNaseA/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。

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	ADS046NE0 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):SMBuffer		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DNaseI分别加入1ml的TE Buffer吹打, 颠倒混匀, 充分溶解RNase A和DNaseI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5-10min。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10min, 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10ml上清液, 加入5 μ l RNaseA和10 μ l DNaseI, 充分混匀, 37°C培养30min。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4ml噬菌体沉淀液, 摇匀至溶解, 冰浴1h或4°C过夜。
- 5、4°C 10000g离心20min, 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15min。
- 7、加入等体积蛋白清除液, 轻轻混匀, 12000g离心5min, 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10min, 弃上清液。
- 9、加入适量的70%乙醇溶液, 混匀, 4°C 8000g离心8min, 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。

有效期: 6个月。