



λ 噬菌体基因组 DNA 提取试剂盒(PEG 沉淀法)

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 /DNaseI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。

源叶生物 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。

组成:

名称 \ 编号	R30172 50T	Storage
试剂(A): RNase A	10mg	-20℃
试剂(B): DNase I	10mg	-20℃
试剂(C): 噬菌体沉淀液	200ml	4℃



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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):

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 λ 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 RNase A 和 10 μ l DNase I, 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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

- 5、4℃ 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 40μl 噬菌体裂解液，68℃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℃孵育 1h，4℃ 12000g 离心 10min，弃上清液。
- 9、加入适量的 70%乙醇溶液，混匀，4℃ 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℃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，可适当提高温度或加大振荡速度。
- 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℃温浴至完全溶解。

有效期：6 个月有效。