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

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。

Yuanye 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：

编号 / 名称	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℃
试剂(D): SM Buffer	50ml	4℃
试剂(E): 噬菌体裂解液	2ml	RT
试剂(F): 蛋白清除液	100ml	4℃ 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、氯仿或氯仿替代物

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℃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℃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 5μl RNase A 和 10μl DNase I，充分混匀，37℃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℃过夜。

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 40 μl 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℃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： 12 个月有效。低温运输，按要求保存。