

## λ噬菌体基因组DNA提取试剂盒（PEG沉淀法）

产品货号：11137

产品规格：50T/100T

### 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。

尚宝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。仅用于科研领域，不用于临床诊断或治疗。

### 产品组成：

产品名称	50T	100T	保存条件
试剂(A): RNase A	10mg	20mg	-20℃
试剂(B): DNase I	10mg	20mg	-20℃
试剂(C): 噬菌体沉淀液	200ml	400ml	4℃
试剂(D): SM buffer	50ml	100ml	4℃
试剂(E): 噬菌体裂解液	2ml	4ml	室温
试剂(F): 蛋白清除液	100ml	200ml	4℃，避光
试剂(G): 噬菌体漂洗液	100ml	200ml	室温
试剂(H): TE buffer	5ml	10ml	室温

### 自备材料：

1. 离心管
2. 低温离心机、摇床
3. 70%乙醇

### 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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

2. 将 0.1~0.5% 氯仿处理后的  $\lambda$  噬菌体感染的 12ml 液体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 $\mu$ l RNase A 和 10 $\mu$ l DNase I，充分混匀，37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 过夜。
5. 4 $^{\circ}$ 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 $\mu$ l 噬菌体裂解液，68 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 孵育 1h，4 $^{\circ}$ C 12000g 离心 10min，弃上清液。
9. 加入适量的 70% 乙醇溶液，混匀，4 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 温浴至完全溶解。

**有效期：**6个月有效。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>