

M13噬菌体单链基因组DNA快速提取试剂盒

产品货号：BA3243

产品规格：50T/100T

产品简介：

M13和其它的丝状噬菌体载体，在文库构建和为序列测序提供单链DNA和引人突变方面十分有用。将适量M13丝状噬菌体或者相关噬粒（M13来源）感染的液体培养物离心，上清中的单链噬菌体DNA在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再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，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净噬菌体单链DNA从硅基质膜上洗脱。

产品内容：

产品组成	50T	100T	保存条件
平衡液	5ml	10ml	室温
结合液 MB	25ml	50ml	室温
漂洗液 WB (第一次使用前按说明加指定量乙醇)	13ml	25ml	室温
洗脱缓冲液 EB	10ml	20ml	室温
吸附柱 EC	50EA	100EA	室温
收集管(2mL)	50EA	100EA	室温

产品特点：

- 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
- 节省时间，简捷，单个样品操作一般可在10分钟内完成。
- 产量高，典型的产量800μl M13丝状噬菌体上清可以提取3μg噬菌体单链DNA。
- 多次柱漂洗确保高纯度，OD260/OD280典型的比值达1.7-1.9。可以直接用来测序，一般典型可辨认读长达650bp。

操作步骤(仅供参考)：

以800μl噬菌体感染细菌培养上清提取举例：

第一次使用前请先在漂洗液WB中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！

- 柱平衡：向吸附柱EC中加入100μl平衡液，13,000 rpm离心1min，弃滤液，备用。
注：平衡液可以增强硅胶膜的吸附核酸能力，请使用当天处理的吸附柱。
- 将M13丝状噬菌体或者相关噬粒（M13来源）感染的液体培养物分装在1.5毫升离心管，12,000rpm离心5分钟沉淀菌体。
- 小心取800μl上清转入新的1.5ml离心管，加入400μl结合液MB，充分混匀。
如果使用的上清大于或者小于800μl，则结合液MB的用量需要按照比例增加或者减少。
- 将上述混合物加入一个吸附柱EC中，（吸附柱放入收集管中）13,000rpm离心15秒，倒掉收集管中的废液。
吸附柱一次最多只可以容纳大约700μl混合物，因此需要分次把混合物加到吸附柱内，重复步骤4。
- 加入600μl漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000rpm离心30秒，弃废液。



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

6. 将吸附柱EC放回空收集管中，13,000rpm离心2分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
7. 取出吸附柱EC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加60μl洗脱缓冲液EB（洗脱缓冲液事先在50°C水浴中预热），室温放置1分钟，12,000rpm离心1分钟。如果想得到较多量的DNA，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，10,000rpm离心1分钟。
洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要DNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于40μl，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。
8. DNA可以存放在2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在-20°C。

注意事项：

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000rpm的传统台式离心机，如Eppendorf 5415C或者类似离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到50°C备用。
3. 结合液MB含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。

保存：室温，12个月。

附录（M13噬菌体感染细菌培养上清准备过程）：

下面举例说明M13噬菌体感染细菌培养上清准备过程，详细的M13噬菌体（或M13来源噬粒）培养和上清准备过程请参见『分子克隆』第二版。

1. 37°C振摇过夜培养合适的噬菌体宿主菌。
2. 使用6%的过夜培养菌接种新鲜的LB培养液，37°C振摇培养一个小时。
3. 根据M13噬菌体的储存液的浓度（滴度）按照0.5-1.5%(V/V)的比例加入噬菌体来感染宿主菌。37°C振摇培养5-6个小时。
4. 将上面M13丝状噬菌体或者相关噬粒（M13来源）感染的液体培养物分装在1.5毫升离心管，12,000rpm离心5分钟沉淀菌体。
5. 可选步骤：小心取1毫升上清转入新的1.5ml离心管，重复步骤4离心5分钟。这步有助于去除上清中残留的微量宿主菌RNA或者DNA。
6. 小心取800μl上清转入新的1.5ml离心管。
7. 按照操作步骤提取噬菌体单链DNA。

问题与解决办法：

低核酸产量或者纯度不高	试剂盒储存在非最佳条件-建议：收到试剂盒后总是存放在室温（15°C-20°C）
	缓冲液或者试剂暴露于减少它们有效性的条件下-建议：储存在室温（15°C-20°C），每次用完后立刻盖紧盖子，以免溶液蒸发，pH改变和污染。
	漂洗液WB中忘记加无水乙醇-建议：第一次实验时，在漂洗液WB中加入指定量无水乙醇。
	试剂和样品没有充分混匀-建议：加入每个试剂后都要充分混匀。
	噬菌体上清滴度太低-建议：离心取噬菌体感染细菌培养物上清时离心最好不要超过5分钟，转速不要超过12,000rpm，否则噬菌体上清也可能离心下来。重新培养一次噬菌体感染细菌。



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>

	洗脱效率不高-建议：确保做了步骤5，否则残留乙醇会影响洗脱效率，仔细阅读步骤6和只使用洗脱缓冲液EB洗脱。
DNA下游酶切不能切开或者酶切不完全	忘记做步骤5，乙醇抑制了酶切反应-建议：做步骤5，然后空气中晾几分钟，让残留乙醇挥发。
	一些硅基质膜成分一起洗脱下来，抑制了酶切反应-建议：将洗脱的基因组DNA溶液13,000rpm再离心一分钟，小心取上清使用。
纯化的DNA产物D260数值异常偏高	一些硅基质膜成分一起洗脱下来，干扰了分光光度计读数-建议：将洗脱的回收DNA溶液13,000rpm再离心一分钟，小心取上清使用。



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>