

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。

Leagene 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	NE0210 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): 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°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 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。
- 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。
- 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。

相关产品：

产品编号	产品名称
CC0005	磷酸缓冲盐溶液(1×PBS,无钙镁)
DF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
IH0305	柠檬酸钠抗原修复液(50×)
IH0340	免疫染色一抗稀释液
NR0001	DEPC 处理水(0.1%)
NR0002	Trizol(总 RNA 提取试剂)
PE0103	Acr-Bis(30%,29:1)
PW0082	丽春红 S 染色液(1×Ponceau S)
TC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)

文献引用：

- 1、Yuqi Li,Yanmei Li,Yi Ma,et al.Isolation and characteristic of Bacillus cereus phage Z3 and its application in rice and milk.LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY.March 2024.10.1016/j.lwt.2024.116022.(IF 6)
- 2、Xunru Liang,Yuhang Wang,Bin Hong,et al.Isolation and Characterization of a Lytic Vibrio parahaemolyticus Phage vB_VpaP_GHSM17 from Sewage Samples.Viruses-Basel.July 2022.10.3390/v14081601.(IF 5.818)
- 3、Dong Yuqi,Huang Yunfei,Fan Huahao,et al.Characterization,complete genome sequencing,and CRISPR/Cas9 system-based decontamination of a novel Escherichia coli phage TR1 from fermentation substrates.Frontiers in Microbiology.August 2023.10.3389/fmicb.2023.1230775.(IF 5.2)
- 4、Zidong Xiao,Xiaowei Hu,Jingtao Chen,et al.Isolation and characterization of Bacillus cereus virulent phage CA1.AQUACULTURE.April 2024.10.1016/j.aquaculture.2024.740989.(IF 3.9)

注：更多使用本产品的文献请参考产品网页