



M13 噬菌体单链基因组 DNA 快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: ZP316

试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP316-01 (50 次)	ZP316-02 (100 次)
结合液 MB	25 ml	50 ml
漂洗液 WB	15 ml	2×15ml
洗脱缓冲液 EB	15 ml	30 ml
吸附柱 AC	50 个	100 个
收集管 (2ml)	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

选配试剂:

RNaseA (10mg/ml)(目录号: ZS106)

储存条件:

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下可保存 12 个月;更长时间的保存可置于 2-8°C。

储存事项:

1. 结合液 MB 低温时可能出现析出和沉淀,可以在 37°C水浴几分钟帮助重新溶解,恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化,各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品介绍:

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 和引物突变方面十分有用。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 在高离子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。

产品特点:

1. 不需要使用有毒的苯酚等试剂,也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 节省时间,简捷,单个样品操作一般可在 10 分钟内完成。
3. 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。
4. 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: (实验前请先阅读注意事项)

以 800 μ l 噬菌体感染细菌培养上清提取举例:

提示: 第一次使用前请先在 I 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!

1. 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。

2. 小心取 800 μ l 上清转入新的 1.5ml 离心管, 加入 400 μ l 结合液 MB, 充分混匀。

如果使用的上清大于或者小于800 μ l, 则结合液MB的用量需要按照比例增加或者减少。

3. 将上述混合物加入一个吸附柱 AC 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700 μ l混合物, 因此需要分次把混合物加到吸附柱内, 重复步骤3。

4. 加入 700 μ l 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。

5. 将吸附柱 AC 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。

6. 取出吸附柱 AC, 放入一个干净的离心管中, 在**吸附膜的中间部位**加 60 μ l 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 50 $^{\circ}$ 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40 μ l, 体积过小降低DNA洗脱效率, 减少DNA产量。

7. DNA 可以存放在 2-8 $^{\circ}$ C, 如果要长时间存放, 可以放置在 - 20 $^{\circ}$ C。

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 $^{\circ}$ C 振摇过夜培养合适的噬菌体宿主菌 (如 JM109)。
2. 使用 6% 的过夜培养菌接种新鲜的 LB 培养液, 37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 800 μ l 上清转入新的 1.5ml 离心管。
7. 现在可以按照操作步骤提取噬菌体单链 DNA 了。