



Toll-free:400-611-2007

Order:010-62617225 62979301

Email:zomanbio@126.com

Http://www.zomanbio.com



版本号:2022-10-17

# 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

试剂盒组成	ZP316-1 (50次)	ZP316-2 (100次)
结合液MB	20 ml	40 ml
漂洗液W2	15 ml	2×15ml
洗脱缓冲液TE	15 ml	15 ml
M13 DNA吸附柱	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。

实验室使用, 仅用于科研

北京庄盟国际生物基因科技有限公司  
Beijing Zoman Biotechnology Co.,Ltd.



### ■ 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和引入突变方面十分有用。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700 $\mu$ l M13丝状噬菌体上清可以提取3 $\mu$ g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（以700 $\mu$ 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漂洗液W2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700 $\mu$ l上清转入新的1.5ml离心管，加入300 $\mu$ l结合液MB，充分混匀。再加入400 $\mu$ l无水乙醇，涡旋1-2秒混匀。

如果使用的上清大于或者小于700 $\mu$ l，则结合液MB和无水乙醇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M13 DNA吸附柱中，（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 $\mu$ 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 $\mu$ l漂洗液W2（请先检查是否已加入无水乙醇!），12,000rpm离心30秒，弃废液。
5. 将M13 DNA吸附柱放回空收集管中，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M13 DNA吸附柱，放入一个干净的离心管中，在**吸附膜的中间部位**加60 $\mu$ l洗脱缓冲液TE（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 $\mu$ l，体积小降低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°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°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700 $\mu$ 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。