



*Note: for laboratory research use only*

**λ噬菌体基因组 DNA 快速提取试剂盒**

**(离心柱型)**

**Cat. #: AB1141 (50preps)**

**AB1142 (100preps)**

**AB1143 (200preps)**

DNA 下游酶切不能切开或者酶切不完全	<p>*忘记做步骤 11, 乙醇抑制了酶切反应-<b>建议</b>: 做步骤 10, 然后在空气中晾几分钟, 让残留乙醇挥发。</p> <p>*一些硅基质膜成分一起洗脱下来, 抑制了酶切反应-<b>建议</b>: 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。</p>
	<p>*使用了错误的培养基培养λ噬菌体-<b>建议</b>: λ噬菌体必须用 LM(含镁离子)培养, 在其它培养肉汤中, DNA 酶切活性可能受到影响。培养板培养必须用琼脂糖 Agarose 板, 如果用琼脂 Agar 板, 可能抑制酶切。</p>
纯化的 DNA 产物 D260 数值异常偏高	<p>*一些硅基质膜成分一起洗脱下来, 干扰了分光光度计读数-<b>建议</b>: 将洗脱的回收 DNA 溶液 13,000rpm 再离心一分钟, 小心取上清使用。</p>

**ABigen™ ABigen Corporation**

北京艾比根生物技术有限公司

电话: +86-010-57158563      传真: +86-010-57158563

网址: www.abigen.com      邮箱: info@abigen.com

技术支持: MSN: abigen@hotmail.com      QQ: 1492876083



**ABigen™ ABigen Corporation**



## λ噬菌体基因组 DNA 快速提取试剂盒（离心柱型）

### ❖ 适用范围：

适用于快速λ噬菌体DNA，提取纯度大，浓度高，适合低滴度噬菌体！

### ❖ 试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次	100 次	200 次
RNase A	-20℃	20 mg	40 mg	80mg
DNase I	-20℃	50 mg	100 mg	200mg
噬菌体沉淀液	室温	100 ml	200 ml	400ml
裂解缓冲液	室温	30 ml	60 ml	120ml
杂质沉淀液	室温	5 ml	10 ml	20ml
结合液 LB	室温	20 ml	40 ml	80ml
漂洗液 WB	室温	20ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇 (3 倍)	2×20 ml	80ml
洗脱缓冲液 EB	室温	10 ml	20 ml	40ml
吸附柱 AC	室温	50 个	100 个	200 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个	200 个
新配 20%SDS	室温	自备	自备	自备

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

### ❖ 问题与解决方法：

问题	评论与建议
低核酸产量 或者纯度不高	<ul style="list-style-type: none"> <li>* 试剂盒储存在非最佳条件-<b>建议</b>：收到试剂盒后总是存放在室温（15℃-20℃）。</li> <li>* 缓冲液或者试剂暴露于减少它们有效性的条件下-<b>建议</b>：储存在室温（15℃-20℃），每次用完后立刻盖紧盖子，以免溶液蒸发，pH 改变和污染。</li> <li>* 漂洗液 WB 中忘记加无水乙醇-<b>建议</b>：第一次实验时，在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇。</li> <li>* 试剂和样品没有充分混匀-<b>建议</b>：加入每个试剂后都要充分混匀。</li> <li>* 噬菌体上清滴度太低-<b>建议</b>：1.确认λ噬菌体已经完全裂解了宿主菌（加入 0.5%的氯仿可以帮助完全裂解）；2.离心去除宿主菌碎片残渣时间不能超过 10 分钟，转速不超过 10,000g，否则噬菌体也可能和碎片一起沉淀丢失；3.重新培养一次噬菌体感染细菌。</li> <li>* DNase I/RNase 消化不足或者过头-<b>建议</b>：消化过头，可能减少产量并导致最后污染宿主菌 DNA；消化不完全，可能未消化的 DNA，RNA 和细胞碎片粘去部分噬菌体，因此可以适当调节用量。</li> </ul>
宿主菌基因组 DNA 残留过高	<ul style="list-style-type: none"> <li>* DNase I/RNase 失活或者反应条件不佳-<b>建议</b>：DNase I/RNase 必须溶解在裂解缓冲液中，必须分装冻存。λ噬菌体必须用 LM(含镁离子)培养，在其它培养肉汤中，DNase 消化活性可能受到影响。</li> </ul>
加入噬菌体 沉淀剂后未见到 λ噬菌体沉淀	<ul style="list-style-type: none"> <li>* 不适合的离心温度和离心力。-<b>建议</b>：10,000g（12,000rpm）4℃离心 10 分钟。</li> <li>* 上清中含λ噬菌体太少-<b>建议</b>：离心前，样品置冰上冷却。参见前面滴度太低解决办法</li> </ul>

---

13. DNA 可以存放在 2-8℃，如果要长时间存放，可以放置在-20℃。

---

**储存事项:**

1. 在 RNase A 管和 DNase I 管分别加入 1 毫升的裂解缓冲液吹打，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,有效期 6 个月。
2. 结合液 LB 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃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。
3. 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:**

λ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，噬菌体被 SDS 裂解，残留碎片通过沉淀离心去除掉。裂解物上清中的λ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λ噬菌体 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，可用于液体培养裂解物和固体培养板的提取，单个样品操作一般可在 1.5 小时内完成。
3. 产量高，典型的产量 10ml λ噬菌体裂解培养物上清可以提取约 10μg-20 μg λ噬菌体 DNA。
4. 多次柱漂洗确保高纯度，OD260/OD280 典型的比值达 1.7~1.9。可以直接用来酶切和测序。

❖ **注意事项**

1. 使用转速可以达到13,000rpm的冷冻离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到 37℃ 备用。
3. 需要自备氯仿，20%SDS（订购时可免费提供--需说明）。
4. 结合液 LB 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。**

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

以 10 ml 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 20ml 漂洗液 WB 中加入 60ml 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！
- ⇒ 将噬菌体沉淀液放在冰上预冷。
1. 将 0.5%氯仿处理后的λ噬菌体感染的液体培养物 10,000g（约 12,000rpm） 4℃ 离心 10 分钟去除细胞碎片和残渣。  
**转速不能过高，时间不能过长，否则噬菌体可能和碎片一起沉淀，降低产量。**
  2. 取 10ml 上清，加入 20μl RNase 和 20μl DNase 充分混匀 37℃ 温育 30 分钟。  
**每个噬菌体培养上清因生长和裂解情况不同而残留 RNA/DNA 量不等。RNase/DNase 消化过头，可能减少产量；消化不良，可能未消化的 DNA/RNA 和细胞碎片粘去部分噬菌体减低产量并/或者导致最后污染宿主菌 DNA，因此应该根据实际情况适当调节用量和消化时间。**
  3. 加入 2 ml 冰预冷的噬菌体沉淀液，轻柔充分混匀后置冰上冷却（培养板裂解物必须在冰上放置 30 分钟）。

4. 10,000g（12,000rpm）4℃ 离心 10 分钟，弃上清，干燥 1 分钟。沉淀下来的噬菌体外观为透亮或者稍白的沉淀。
5. 加入 500μl 裂解缓冲液，吹打重悬噬菌体，加入 100μl 20%SDS，立即轻柔颠倒混匀 4-6 次后，70℃ 温育 10 分钟，然后置冰上冷却。
6. 加入 100μl 杂质沉淀液，立即轻柔颠倒混匀 4-6 次，最高速 12,000g 4℃ 离心 10 分钟。
7. 仔细将上清（大约 350μl）转入新的离心管，加入 350μl 结合液 LB，轻柔涡旋混匀。**一定要混匀，以免影响产量，加入结合液的时候要缓慢吸取。**
8. 将上述混合物加入一个吸附柱 AC 中，（吸附柱放入收集管中）12,000rpm 离心 60 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，如果离心不下去，可弃废液，再离心1min，重复步骤8。**
9. 加入 700μl 漂洗液 WB **（请先检查是否已加入无水乙醇！）**，12,000rpm 离心 60 秒，弃废液。
10. 可选步骤：重复步骤 9 一遍。
11. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000rpm 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。
12. 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 100μl 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 50℃ 水浴中预热），室温放置 1 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。如果想得到较多的 DNA，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，12,000rpm 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。**