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。

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：

编号 / 名称	GCNE0210 50T	Storage
试剂(A): RNase A	10mg	-20℃
试剂(B): DNase I	10mg	-20℃
试剂(C): 噬菌体沉淀液	250ml	4℃
试剂(D): SM Buffer	50ml	4℃
试剂(E): 噬菌体裂解液	2ml	RT
试剂(F): 蛋白清除液	100ml	4℃ 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℃冻存，6 个月有效。

买试剂，找沃凯
邮箱：Jack@oka-vip.com Http://www.bjoka-vip.com 电话: 010-62971590

2、将氯仿滴加到λ噬菌体感染的液体培养液中(氯仿终浓度在 0.1-0.5%)，37℃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 5μl RNase A 和 10μl DNase I，充分混匀，37℃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 5ml 噬菌体沉淀液，摇匀至溶解，冰浴 1h 或 4℃过夜。
5、4℃ 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 μl 噬菌体裂解液，68℃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℃孵育 1h，4℃ 12000g 离心 10min，弃上清液。
9、加入适量的 70%乙醇溶液，混匀，4℃ 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℃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、噬菌体沉淀液在低温下易析出白色物质，可 60℃以上温浴至完全溶解。
5、噬菌体裂解液在低温下易结晶析出白色物质，可 37℃温浴至完全溶解。
6、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
7、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。

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)

本产品仅用于科学研究或者工业应用等非医疗目的
不可用于人类或动物的临床诊断或治疗，非药用，非食用

相关产品：

产品编号	产品名称
GCNA0006	DNA 凝胶上样缓冲液(6×DNA Loading Buffer)
GCNA0030	50×TAE 缓冲液
GCNA0034	5×TBE 缓冲液
GCNA0093	GoldView(10000×)
GCNA0095	GelRed(10000×)
GCNA0096	GelGreen(10000×)
GCNA0200	DNA Marker(100bp-1500bp)
GCND0081	EDTA 溶液(0.5mol/L,pH8.0)
GCNE0011	CTAB 抽提液
GCNE0049	RNA 沉淀剂(75%,RNase free)
GCNE0092	水饱和酚(Phenol Water)
GCNE0095	Tris 饱和酚(pH > 7.8)
GCNE0120	溶菌酶(Lysozyme,10mg/ml)
GCNE0210	λ噬菌体基因组 DNA 提取试剂盒(PEG 沉淀法)
GCNE0260	组织细胞 RNA 提取试剂盒(一步提取法)
GCNE0301	核酸助沉剂(Glycogen,5mg/ml)
GCNE0310	Glycogen(核酸沉淀用)
GCNE0500	核酸提取辅助试剂(24:1 替代试剂)
GCNE0502	核酸提取辅助试剂(25:24:1 替代试剂,pH > 7.8)
GCNE0503	核酸提取辅助试剂(25:24:1 替代试剂,pH < 5.0)
GCNE0506	核酸提取辅助试剂(25:24 替代试剂,pH > 7.8)
GCNE0508	核酸提取辅助试剂(25:24 替代试剂,pH < 5.0)
GCNE0510	核酸提取辅助试剂(1:1 替代试剂,pH > 7.8)
GCNE0512	核酸提取辅助试剂(1:1 替代试剂,pH < 5.0)
GCNH0012	磷酸缓冲盐溶液(1×PBS,无钙镁,RNase free)
GCNH0043	SSC 缓冲液(20×,pH7.0)
GCNH0053	变性鲑鱼精 DNA(10mg/ml)
GCNI0001	RNase 抑制剂(40U/μl,鼠源)
GCNP0053	三磷酸腺苷溶液(ATP,10mmol/L)
GCNP0059	甜菜碱溶液(5mol/L,PCR 级)
GCNP0063	无菌去离子水(For PCR)
GCNP0211	2×HotStart qPCR Probe master mix
GCNR0001	DEPC 处理水(0.1%)
GCNR0002	总 RNA 提取试剂
GCNR0004	RNA 提取辅助试剂(氯仿替代物)
GCNR0005	DTT 溶液(1mol/L,RNase free)
GCNR0007	无酶无菌水(非 DEPC 处理)
GCNR0073	Tris-HCl 缓冲液(1mol/L,pH8.0,RNase free)
GCNR0095	去离子甲酰胺
GCNR0220	氯化镁溶液(1mol/L,RNase free)
GCNV0010	细菌冻存液
GCNZ0101	核酸清除剂
GCNZ0111	RNase and DNase Away
GCNZ0112	RNase, DNase and DNA Away
GCNZ0113	RNase, DNase, RNA and DNA Away

本产品仅用于科学研究或者工业应用等非医疗目的
不可用于人类或动物的临床诊断或治疗，非药用，非食用