



Quick λ Bacteriophage Genomic DNA Extraction Kit

λ 噬菌体基因组 DNA 快速提取试剂盒

说明书

【产品简介】

本试剂盒的抽提试剂采用独特的配方和添加剂，能高效的裂解宿主细胞和噬菌体，分离纯化出高纯度的噬菌体基因组 DNA，还可以有效地抑制各种外源性和内源性的核酸酶，同时结合特制的纯化柱，能最大限度的保持核酸的完整性、高得率以及纯度。

【试剂盒组成】

试剂盒组成	LG-0105 A (50 次)	LG-0105B (100 次)
DNase I	110 μ l	220 μ l
RNase A	110 μ l	220 μ l
沉淀液 PBB	2X125ml	500ml
裂解液 PLB	30ml	60ml
吸附液 PAB	30ml	60ml
漂洗液 WB1	20ml	40ml
漂洗液 WB2	12ml	24ml
洗脱液 EB	8ml	16ml
离心纯化柱	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

【试剂运输及储存条件】

试剂运输可在常温环境下进行。储存时，DNase I和RNase A在-20 $^{\circ}$ C保存，其余试剂于室温保存。

【操作步骤】

- 将 0.5%氯仿处理后的 10ml λ 噬菌体感染的液体培养物，4 $^{\circ}$ C,8000 \times g 离心 10 分钟除去细胞碎片和残渣。
注意：本试剂盒只适用于 10ml 及更小体积的培养物。离心转速不宜过高否则噬菌体可能一起沉淀。
- 取上清至另一干净的离心管中，加入 2 μ l DNase I 和 2 μ l RNase A，用移液器充分吸打混匀，37 $^{\circ}$ C温浴 30min。
注意：噬菌体培养上清可能因生长和裂解情况不同，残留的 RNA 和 DNA 的量可能不等，可根据实际情况调整消化的时间，以免引入宿主菌核酸污染或者降低噬菌体 DNA 得率。
- 往裂解物中加入 5ml (1/2 培养物体积) 沉淀液 PBB，轻柔充分混匀后，冰浴 1hr。
- 4 $^{\circ}$ C,10,000 \times g离心10min，弃尽上清，室温干燥1min。
- 往噬菌体沉淀中加入500 μ l裂解液PLB，轻柔吹打重悬噬菌体，68 $^{\circ}$ C温浴15min。
- 往裂解物中加入500 μ l吸附液PAB，轻柔吹打混匀。
- 加入0.5ml三氯甲烷，小心盖上管盖，剧烈摇动15s。
注意：请不要漩涡震荡。
- 将离心管再次置于室温1min，4 $^{\circ}$ C，12,000 \times g 离心15min。
- 将上清水相转移至另一新的无核酸酶离心管中，并加入0.6倍体积的异丙醇，用移液器轻柔吹打混匀。
- 立即吸取500 μ l样品以及有可能形成的沉淀，加入带有2ml收集管的离心纯化柱。轻盖盖子，11,000 \times g，室温离心1min，收集流穿液在另一新的1.5ml离心管中。
- 将剩余的样品转移至离心柱，重复第10步。
- 往离心柱中加入700 μ l漂洗液WB1，轻盖盖子，室温静置1min，11,000 \times g，室温离心15s，弃尽废液。
注意：第一次使用前请确认是否已经按照标签提示往漂洗液WB1中加入适量无水乙醇。



- 往离心柱中加入500 μ l漂洗液WB2, 轻盖盖子, 11,000xg, 室温离心15s, 弃尽废液。
注意: 第一次使用前请确认是否已经按照标签提示往漂洗液WB2中加入适量1无水乙醇。
- 重复步骤13一次。
- 11,000xg离心空柱2min干燥硅胶膜。
- 将离心柱转移至新的无核酸酶的1.5ml离心管中, 往硅胶膜中央滴加70 μ l洗脱液EB, 轻盖管盖, 室温静置2-3min, 11,000xg离心1min洗脱基因组DNA。
- 把洗脱液滴加回硅胶膜重复第16步洗脱。
- 如需后续操作, 请始终将溶解的DNA至于冰上, 保存请置于-80 $^{\circ}$ C。

【DNA定量】

实例: 用常规比色皿测量RNA浓度。

DNA样品总体积: 50 μ l

稀释因子, 1:100 (10 μ l DNA样品+990 μ l无核酸酶高压灭菌水)

A260读值: 0.20 (在1ml比色皿中测量)

因此, DNA样品浓度= $50 \times A260 \times \text{稀释因子} = 50 \times 0.20 \times 100 = 1000 \mu\text{g/ml}$

DNA样品的得率= $1000 \times 0.05 = 50 \mu\text{g}$

实例: 用超微量比色皿测量DNA浓度。

DNA样品总体积: 50 μ l

稀释因子, 1:100 (1 μ l DNA样品+99 μ l无核酸酶高压灭菌水)

A260读值: 0.20 (在超微量比色皿中测量)

因此, DNA样品浓度= $50 \times A260 \times \text{稀释因子} = 50 \times 0.20 \times 100 = 1000 \mu\text{g/ml}$

DNA样品的得率= $1000 \times 0.05 = 50 \mu\text{g}$

【注意事项】

- 操作时请使用一次性手套和口罩。
- 第一次使用前请确认是否已经往漂洗液WB1和WB2中加入适量乙醇。
- 吸附液AB和裂解液PLB在低温时可能产生沉淀, 请加热充分溶解后使用。

【有效期】

本试剂盒有效期为12个月, 请在有效期内使用。

注: 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。