

Version: AA 3.2 (2021.04.01修订)

SPARKeasy Phage DNA Kit

M13噬菌体单链基因组DNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AA1801

01/产品组分

序号	组分	50 次 AA1801-A	200 次 AA1801-B
1	结合液 MB	25 mL	100 mL
2	漂洗液 WB	15 mL 第一次使用前按说明加指定量无水乙醇	2×25 mL
3	洗脱缓冲液 EB	10 mL	40 mL
4	吸附柱 AC	50 个	200 个
5	收集管 (2 mL)	50 个	200 个

02/保存条件

所有组分均室温 (15-25℃) 保存。

03/产品概述

本试剂盒适用于快速提取 M13 噬粒单链 DNA, 可在 30 min 内完成单个或多个样本的提取工作。M13 和其它的丝状噬菌体载体可用于文库构建和为序列测序提供单链 DNA 和引入突变等方面。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 在高离序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, 进一步将盐、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。典型产量: 800 µL M13 丝状噬菌体上清可以提取 3 µg 噬菌体单链 DNA。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 650 bp。

04/自备材料

无水乙醇

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）下进行。
- ◇ 开始实验前根据需要将水浴预热到 50℃ 备用。
- ◇ 结合液 MB 低温时可能出现析出沉淀或出现浑浊，可以在 37℃ 水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 结合液 MB 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。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化等影响，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
- ◇ 首次使用前请先在漂洗液 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！

06/使用方案（以800 μL噬菌体感染细菌培养上清提取举例）

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 mL离心管，12,000 rpm（13,400×g）离心5 min沉淀菌体。
2. 小心取800 μL上清转入新的1.5 mL离心管，加入400 μL结合液MB，充分混匀。
▲如果使用的上清大于或者小于800 μL，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），12,500 rpm（14,500×g）离心15 s，倒掉收集管中的废液。
▲吸附柱一次最多只可以容纳大约700 μL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600 μL漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400×g）离心30 s，弃废液。
5. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,500 rpm（14,500×g）离心2 min，尽量除去漂洗液。
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 μL洗脱缓冲液EB（事先在50℃水浴中预热），室温放置1 min，12,000 rpm（13,400×g）离心1 min。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，10,000 rpm（11,260×g）离心1 min。
▲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 μL，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℃，如果要长时间存放，可以放置在-20℃。

附录：（M13 噬菌体感染细菌培养上清准备过程）：

1. 37℃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℃ 振摇培养 1 h。
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℃ 振摇培养 5-6 h。
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 mL 离心管，12,000 rpm（13,400×g）离心 5 min 沉淀菌体。
5. **可选步骤**: 小心取 1 mL 上清转入新的 1.5 mL 离心管，重复步骤 4 离心 5 min，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 μL 上清转入新的 1.5 mL 离心管。按照前面所述操作步骤提取噬菌体单链 DNA。

07/相关产品

AC1709 RNase Free and DNase Free 纯水

AJ0101 Spark 2000 DNA Marker

AJ0102 Spark 5000 DNA Marker

AJ0206 Spark 50×TAE Buffer

AJ0208 Spark GoldView

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

