

Imagene®

M13 Phage DNA Kit

M13 噬菌体单链基因组 DNA 快速提取试剂盒



CODONX
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

M13 噬菌体单链基因组 DNA 快速提取试剂盒

目录号 DE125

使用说明书

网站: www.codonx.com
咨询电话: 010-56315162
技术支持 QQ: 3090544158

- 1/适用范围
- 2/试剂盒组成、储存、稳定性
- 3/储存事项
- 4/产品介绍
- 5/产品特点
- 6/注意事项
- 7/操作步骤
- 8/附录
- 9/问题与解决方法

1/适用范围:

适用于快速提取M13噬粒单链DNA。

2/试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次	100 次
		(DE125-01)	(DE125-02)
结合液 MS	室温	25 ml	50 ml
漂洗液 WB	室温	15 ml	25ml
		<i>第一次使用前按说明加指定量乙醇</i>	
洗脱缓冲液 EB	室温	10 ml	20 ml
吸附柱 DA	室温	50 个	100 个
收集管 CT (2ml)	室温	50 个	100 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

3/储存事项:

1. 结合液 MS 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。
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。

4/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，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。

5/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 800μl M13 丝状噬菌体上清可以提取 3μg 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，

一般典型可辨读长达 650bp。

6/注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000rpm的传统台式离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到 50℃ 备用。
3. 结合液 MS 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。

7/操作步骤：(实验前请先阅读注意事项)

以 800μl 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 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！

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 800μl 上清转入新的 1.5ml 离心管，加入 400μl 结合液 MS，充分混匀。
如果使用的上清大于或者小于800μl，则结合液MS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 DA 中，（吸附柱放入收集管 CT 中）13,000rpm 离心 15 秒，倒掉收集管 CT 中的废液。
吸附柱一次最多只可以容纳大约700μl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 600μl 漂洗液 WB（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），12,000rpm 离心 30 秒，弃废液。
5. 将吸附柱 DA 放回空收集管 CT 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. 取出吸附柱 DA，放入一个干净的离心管中，在**吸附膜的中间部位**加 60μl 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40μl,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,可以放置在一20℃。

8/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℃ 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℃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 1.5ml 离心管, 12,000rpm 离心 5 分钟沉淀菌体。
5. **可选步骤:** 小心取 1ml 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 800μl 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。

9/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	<p>*试剂盒储存在非最佳条件-建议: 收到试剂盒后总是存放在室温 (15℃-20℃)</p> <p>*缓冲液或者试剂暴露于减少它们有效性的条件下-建议: 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。</p> <p>*漂洗液 WB 中忘记加无水乙醇-建议: 第一次实验时, 在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇。</p> <p>*试剂和样品没有充分混匀-建议: 加入每个试剂后都要充分混匀</p> <p>*噬菌体上清滴度太低-建议: 离心取噬菌体感染细菌培养物上清时</p>

离心最好不要超过 5 分钟，转速不要超过 12,000rpm，否则噬菌体上清也可能离心下来。重新培养一次噬菌体感染细菌

*洗脱效率不高-**建议**：确保做了步骤 5，否则残留乙醇会影响洗脱效率，仔细阅读步骤 6 和只使用洗脱缓冲液 EB 洗脱

DNA 下游酶切不能切开或者酶切不完全

*忘记做步骤 5，乙醇抑制了酶切反应-**建议**：做步骤 5，然后空气中晾几分钟，让残留乙醇挥发。

*一些硅基质膜成分一起洗脱下来，抑制了酶切反应-**建议**：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

纯化的 DNA 产物 D260 数值异常偏高

*一些硅基质膜成分一起洗脱下来，干扰了分光光度计读数-**建议**：将洗脱的回收 DNA 溶液 13,000rpm 再离心一分钟，小心取上清使用。



CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd

Yizhuang Biomedical Park
Building 6, No.88 6th Kechuang St.Economic-Technological Development Area,Beijing,China
Tel: 010-56315162 www.codonx.com