

## 目录

|                    |   |
|--------------------|---|
| 产品说明.....          | 2 |
| 贮存条件和稳定性.....      | 2 |
| 产品组分.....          | 2 |
| 实验前准备.....         | 2 |
| M13 DNA提取操作步骤..... | 3 |
| 疑难问题解答.....        | 4 |

## 产品说明

EZgene™ M13 噬菌体 DNA 提取试剂盒适用于从宿主菌株培养上清中纯化高质量的 M13 单链 DNA。本试剂盒结合膜吸附技术和独特的缓冲液系统，可以从 1~3mL 培养上清中纯化 3~10µg M13 单链 DNA。提取过程中，通过缓冲液 PC 沉淀上清中的颗粒，通过吸附柱，使上清中的颗粒沉淀到膜上，通过缓冲液 PB 的裂解和吸附相结合的操作，分离 M13 单链 DNA。

## 贮存条件和稳定性

本试剂盒所有组分可室温保存。自购买之日起，室温保存 12 个月后不影响提取效果。

## 产品组分

| Catalog#             | BG0174 | BG0175     |
|----------------------|--------|------------|
| Preps                | 50     | 250        |
| DNA mini columns     | 50     | 250        |
| 2 mL collection tube | 100    | 500        |
| Buffer PB            | 18 mL  | 80 mL      |
| Buffer PC            | 75 mL  | 160 x 2 mL |
| DNA Wash Buffer      | 15 mL  | 3 x 24 mL  |
| Elution Buffer       | 10 mL  | 25 mL      |
| User Manual          | 1      | 1          |

## 实验前准备

第一次使用本产品，请先仔细阅读说明书，并熟悉操作步骤，并按照以下标准在 DNA Wash Buffer 中加入要求量的无水乙醇：

- ☒ BG0174: 加入 60 mL 无水乙醇，混匀后室温保存。
- ☒ BG0175: 每瓶中加入 96 mL 无水乙醇，混匀后室温保存。

## M13 噬菌体DNA提取操作步骤

1. 准备 1~3mL M13 噬菌体感染的细菌培养液，37℃培养 6~7 小时。
2. 室温下，5,000rpm 离心 10 分钟，沉淀细菌。
3. 转移上清液到一个新的无核酸酶的离心管中。小心操作，避免吸起细菌沉淀，如果不小心吸起沉淀，请重复步骤 2，再进行转移上清液操作。
4. 重复步骤“3”。
5. 加入 0.2 倍体积的 Buffer PB，涡旋混匀，室温放置 10 分钟。
6. 转移 700μL 以上溶液到带有收集管的吸附柱中，室温下 10,000rpm 离心 30s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回到收集管中。
7. 重复步骤“6”，直至整个样品全部通过吸附柱，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入一个新的收集管中。
8. 向吸附柱中加入 600μL Buffer PC，8,000rpm 离心 30s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回到收集管中。
9. 再次向吸附柱中加入 600μL Buffer PC，室温放置 1 分钟，10,000rpm 离心 30s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回到收集管中。
10. 向吸附柱中加入 650μL DNA Wash Buffer，10,000rpm 离心 30s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回到收集管中。
11. 重复步骤“10”，弃废液和收集管，将吸附柱放入一个新的收集管中，开盖室温下，13,000rpm 离心 2 分钟，去除残留的乙醇。

注意：此步骤重要，开盖更有利于乙醇的去除，乙醇残留将会影响洗脱效率和下游实验困难。
12. 将吸附柱放入到一个新的无核酸酶的 1.5mL 的离心管中，加入 50~100μL Elution Buffer（65℃预热），室温放置 5 分钟。

注意：将洗脱缓冲液进行 65℃预热将会大大增加最终的洗脱效率。
13. 室温下，13,000rpm，离心 1 分钟，洗脱 DNA。

## 疑难问题解答

| 问题           | 可能的原因                    | 建议                                               |
|--------------|--------------------------|--------------------------------------------------|
| DNA 收获量低     | 宿主菌株不正确                  | 宿主菌株应该带有 F 因子，否则不利于 M13 噬菌体的感染。                  |
|              | 细菌培养液过量生长或者不新鲜           | 细菌培养不超过 7 小时。                                    |
|              | 洗脱缓冲 PH 过低               | 如果用水洗脱，请保证 PH 在 7~8.5。                           |
|              | 洗脱缓冲液加入位置不正确             | 洗脱缓冲液应加至膜的中央，室温条件下放置 5 分钟后再进行离心洗脱操作。             |
|              | 柱子堵塞                     | 每个吸附柱处理的上清液的量不应超过 3mL，转移上清时，避免吸起细菌沉淀。            |
| 未收获到 DNA     | DNA Wash Buffer 未用乙醇稀释   | 按照瓶子上的标签，加入无水乙醇到 DNA Wash Buffer 中。              |
| 基因组 DNA 污染   | 转移上清时带入了细菌               | 转移上清液体，确保不要吸起沉淀，请按照要求进行两次离心转移陈上清操作，以最大限度的避免吸起沉淀。 |
| M13DNA 漂出点样孔 | M13DNA 中乙醇残留，吸附柱中乙醇未去除干净 | 洗脱前，延长空离心操作，去除残留的乙醇。                             |