



LAMBDA INN *in vitro* Packaging Kit

LAMBDA INN *in vitro* 包装试剂盒

产品编号:317-01741 (3 tests)

本产品是用于高效*in vitro*包装λDNA的试剂盒, 其中Freeze/Thaw Lysate和Sonicated Extract已添加至1根管中, 因此操作简便。
包装的大致过程如下:①外壳前体的形成;②将在cos位点连接形成多联体的λ噬菌体DNA插入外壳前体;③在cos位点裂解;④噬菌体颗粒成熟。

包装效率

1×10^8 pfu/μg Standard λDNA 以上

存储条件

-80°C 储存

试剂盒组成

包装提取物 30 μL × 3 支 (黄色管)
λDNA标准品 20 μL × 1 本 (透明管)
大肠杆菌VCS257指示物 10 μL × 1 本 (蓝色管)

- ※ 产品签收后, 请立即放入-80°C冷冻室中储存。
- ※ 请勿使用液氮。
- ※ 解冻后的包装提取物无法再次储存, 请在解冻后立即使用, 并在单次实验中使用完毕。

备注

- 本产品对甲基化DNA有轻微的限制活性, 因此在包装高度甲基化的基因组DNA时效率可能会降低。
- 当使用含有酒精共沉淀剂 (如乙醇胺) 的DNA时, 效率也会降低。

用途

- λ噬菌体DNA的*in vitro*包装
- cDNA文库构建
- 粘粒载体 (Charomid DNA) 的*in vitro*包装

使用示例

以下为使用本试剂盒中包含的λ DNA标准品 (0.04 μg/μL) 进行对照实验的步骤。

本产品仅供实验研究用, 请勿用于药物。



<λ噬菌体DNA的in vitro包装>

为避免产生气泡,通过移液或使用吸头混合溶液时,请使用口径较大的吸头(或将吸头剪去约0.5 cm)。

A 包装的反应

- ① 将包装提取物从-80℃的冷冻库中取出后置于冰上,并迅速溶解(无需Tapping)。
- ② 加入1~6 μL DNA溶液(~1 μg/μL)^{※1)},使用吸头混匀。(注意不要起泡)
- ③ 室温(约22℃)下静置1~2 h。
- ④ 加入0.5~1 mL SM Buffer (Phage Buffer)^{※2)} 平稳倒置进行混合(如需在4℃下保存数日,则需添加1滴氯仿)。

B-1 宿主菌的制备

- ① 向2 mL的LB broth中添加70 μL的20%麦芽糖,制备培养基。通过菌落分离^{※3)} 获得大肠杆菌VCS257的单菌落,接种至培养基,并于37℃下摇瓶培养过夜。
- ② 取1 mL菌液至1.5 mL离心管中,离心(1,500×g, 5 min)后去除上清,向获得的沉淀中加入0.5 mL的10 mM MgCl₂(或MgSO₄),使用搅拌器悬浊后置于冰中(此步骤中稀释的菌液需立即用于B-2②)。

B-2 导入宿主菌

- ① 稍微离心(3,000×g, 5 ec)包装反应后的噬菌体液,沉降残留,使用SM Buffer 10⁵倍(100,000倍)稀释^{※4)} 上清。
- ② 向15 mL管中加入100 μL的B-1②制备的菌液和100 μL的B-2①中10⁵倍稀释的噬菌体液,吹打混匀后在室温(约22℃)下放置15 min。
- ③ 迅速与50℃左右保温的3 mL M Top琼脂(LB Top琼脂)^{※5)} 混合,倒入已凝固的LB平板上。
- ④ 待倒入的M Top琼脂充分凝固后,倒置使培养基部分朝上,在37℃下静置培养过夜。
- ⑤ 计数形成的噬菌斑数量,计算包装效率。

※1) 进行对照实验时,需添加5 μL (0.2 μg) λDNA标准品(0.04 μg/μL)。根据对照试验中得到的包装效率,如出现重组DNA包装效率低的情况,请探讨DNA溶液的浓度。

※2) SM Buffer (Phage Buffer):

NaCl	2.9 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1 g
1 M Tris-HCl (pH 7.5)	25 mL
2% 明胶	2.5 mL

以上成分添加H₂O至500 mL,高压灭菌后在4℃下储存。

※3) 在LB平板(不含抗生物质)上使用划线培养法,挑选出与其他菌落分离开的单菌落。

※4) 稀释示例(使用搅拌器混匀)

稀释倍率	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
SM Buffer	450 μL	495 μL	450 μL	450 μL
上清(稀释液)	50 μL	5 μL	50 μL	50 μL

※5) M Top琼脂(LB Top琼脂)

胰蛋白胨	10 g
酵母提取物	5 g
NaCl	5 g
琼脂	7.5 g

以上成分添加H₂O至1 L,高压灭菌后在4℃下储存。

使用时可通过微波炉等加热溶解,取所需量,加入经过滤灭菌的1 M MgCl₂至最终浓度为10 mM,并在约50℃的水浴中保温。

富士胶片和光(广州)贸易有限公司

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼
3002、3003、3011室
询价: wkgz.info@fujifilm.com
官网: labchem.fujifilm-wako.com.cn

北京 Tel: 13611333218
上海 Tel: 021 62884751
广州 Tel: 020 87326381
香港 Tel: 852 27999019