

D6948B Endo-free Plasmid Mini Kit I 简易中文步骤

√实验前请按说明书正确配制和保存 Solution I

- 将小瓶 RNase A 加入到 Solution I, 放置在 2~8°C 中保存。
- 使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释, 稀释后室温保存

货号	加入量
D6948-00B	1.6mL
D6948-01B	10mL
D6948-02B	32mL

- 使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释, 稀释后室温保存

货号	加入量
D6948-00B	6mL
D6948-01B	60mL
D6948-02B	100mL

- 在使用 Solution II 前观察其是否有沉淀, 若有沉淀, 可在 37°C 加热使其沉淀溶解。

提取步骤:

1. 取 1-5ml 菌液 10,000 x g 室温离心 1min 收集菌体沉淀;
2. 小心去除上清液, 加 250ul Solution I/RNase A, 涡旋或用移液枪上下吹打重悬菌体。
3. 加 250ul Solution II, 轻轻颠倒混匀, 将混合液室温放置 2~3min;
Note: 加入 Solution II 后裂解时间不应超过 5min; 密封保存。
4. 加入 125μl 预冷的 N3 Buffer, 轻柔上下颠倒离心管数次至形成白色絮状沉淀;
5. 室温 ≥ 13000xg 离心 10min, 转移上清液至新 1.5ml 离心管中;
6. 加入与上清等体积的 ETR Binding Buffer, 颠倒混匀 7-10 次, 室温放置 10min。
7. 结合质粒, 把结合柱插入 2ml 收集管, 每次转移 700ul 混合液至结合柱柱里, 最大速度离心 1min, 弃滤液。
8. 重复第 7 步, 直至所有上清都过滤完, 弃滤液。
9. 把结合柱插入 2ml 收集管, 加入 500ul ETR Wash Buffer 到结合柱上, 最大速度离心 1min, 弃滤液。
10. 把结合柱插入 2ml 收集管, 加入 500ul HBC Buffer 到结合柱上, 最大速度离心 1min, 弃滤液;
11. 把结合柱插入 2ml 收集管, 加入 700ul DNA Wash Buffer 到结合柱上, 最大速度离心 1min 使全部液体滤过柱子, 弃滤液;

注意：浓缩的 DNA Wash Buffer 在使用之前必须按标签的提示用无水乙醇稀释。

12. 重复步骤 11；

13. 把空柱子套回离心管，最大转速（不超过 13,000xg）离心 2min 干燥柱子；

14. 把结合柱套在一个新的 1.5ml 离心管中，加入 30-100ul Endotoxin-Free Elution Buffer，室温放置 1min，最高转速离心 1min 洗脱质粒 DNA。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准