

E.Z.N.A.[™] EndoFee Plasmid Mini Kit II

Cat. No: D6950

简易说明书

实验前准备

1. 使用前,将RNase A全部加入Solution I中并于4度保存。
2. 按下表用无水乙醇稀释DNA Wash Buffer, 并于室温保存。

D6950-00: 加入8ml无水乙醇

D6950-01: 加入80ml无水乙醇

D6850-02: 每瓶中加入80ml无水乙醇

离心操作方案

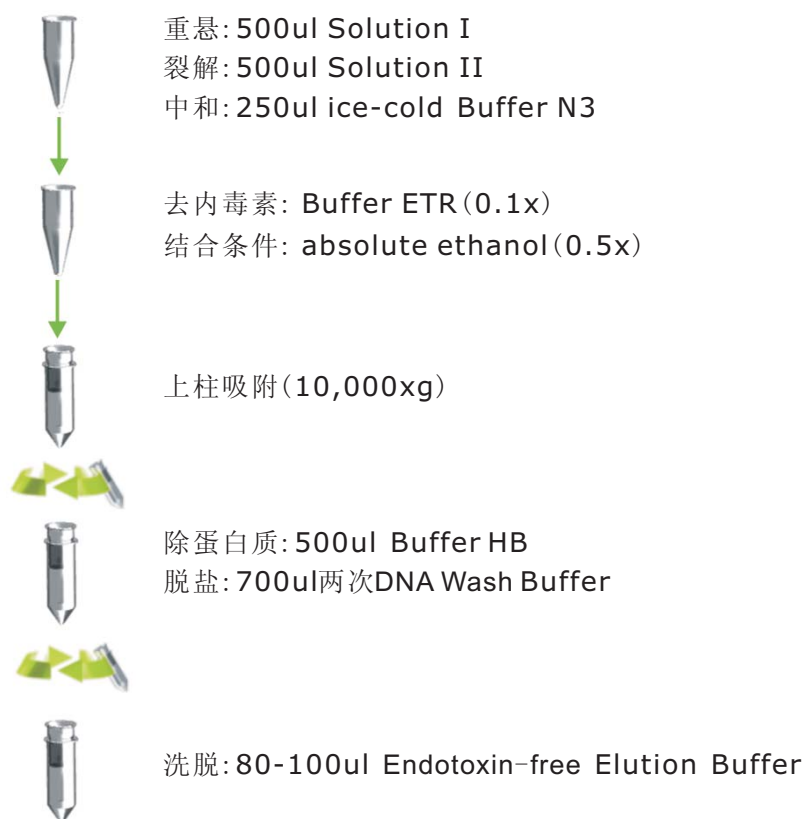
1. 将带有质粒的E.coli 接种于10-15ml LB/抗生素培养液中, 37°C摇床培养12~16 h;
2. 取10~15 ml的菌液, 室温下5,000xg离心10min收集细菌。
3. 倒弃培养基。加入500ul Solution I/RNaseA混和液, 漩涡振荡使细胞完全悬浮。
细菌的完全重悬对于获得高产量是十分重要的。
4. 往重悬混和液中加入500ul Solution II, 轻轻颠倒混匀7-10次。避免剧烈混和裂解液, 否则会使染色体DNA发生断裂。裂解反应不要超过5 min。
5. 加入250ul 冰浴Buffer N3, 并温和颠倒离心管数次至形成白色絮状沉淀。室温, $\geq 12000xg$ 离心10min。
6. 转移上清液至1.5ml离心管中, 加入0.1倍体积的ETR溶液, 混匀后冰浴10min。
注意: 在加入ETR溶液后, 裂解液会变得浑浊, 但冰浴后将逐渐转为澄清。
7. 42°C水浴5min, 25°C, 12,000xg离心3min, ETR溶液将在管底形成蓝色分层。
8. 转移上清液移至离心管中, 加入0.5倍体积无水乙醇(室温), 混匀后室温静置1-2min。
转移混合液至柱子内, 室温下10,000xg, 离心1 min, 倒去滤液。
9. 取干净HiBind 柱装在2ml收集管, 转移700ul混合液至柱子, 10,000xg离心1min, 弃滤液。
10. 把柱子重新装回收集管, 重复第9步至所有混合液都从柱子中滤出。
11. 把柱子重新装回收集管, 加入500ul HB Buffer, 按上述条件离心, 弃去滤液。
12. 把柱子重新装回收集管, 加入700ul DNA Wash Buffer, 按上述条件离心, 弃去滤液。
注意: 浓缩的DNA Wash Buffer在使用之前必须按标签的提示用乙醇稀释。
13. 弃去滤液, 重复步骤12一次。
14. 弃去滤液, 把柱子重新装回收集管, 10,000xg离心空柱2min以甩干柱子基质。
注意: 不要忽略此步——这对从柱子上除去乙醇至关重要。
15. 把柱子装在干净的1.5ml离心管上, 加入80-100ul Endotoxin-free Elution Buffer到柱子基质上所加的量取决于预期终产物浓度), 室温下静置2min。 $\geq 10,000xg$ 离心2min洗脱出DNA。

E.Z.N.A.[™] EndoFree Plasmid Mini Kit II

Cat. No: D6950

简易说明书

快速流程图



订货信息

品名	菌液用量	大结合力	货号 and 次数	价格
Endo-Free Plasmid Mini Kit I	1-5 mL	30 µg	D6948-00(5)	¥100
			D6948-01(50)	¥540
			D6948-02(200)	¥1980
Endo-Free Plasmid Mini Kit II	5-15 mL	70 µg	D6950-00(5)	¥100
			D6950-01(50)	¥675
			D6950-02(200)	¥2520
Endo-Free Plasmid Midi Kit	15-50 mL	250 µg	D6915-01(10)	¥630
			D6915-03(25)	¥1530
			D6915-04(100)	¥5670
Endo-Free Plasmid Maxi Kit	50-250 mL	1.0 mg	D6926-01(6)	¥594
			D6926-03(25)	¥2250
			D6926-04(100)	¥8820

Omega中国区订货/技术支持

www.omegabiotek.com.cn tel:020-32058425 fax:020-32058915

