

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。

D6948-00B: 加入8ml无水乙醇

D6948-01B: 加入80ml无水乙醇

D6848-02B: 加入80ml无水乙醇

离心操作方案

1. 取1.5-5ml 菌液10,000 × 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，涡旋或用移液枪上下吹打重悬菌体。
3. 加250ul Solution II，来回颠倒4-6次轻柔混匀，得到澄清的裂解液。
4. 加125ul Buffer N3，颠倒混匀几次直至出现白色絮状沉淀，室温放置2-3min让其充分反应。
5. 12,000 × g 室温或4℃ 离心10min得上清，把上清转移到一个新的离心管内；
6. 加入与上清等体积的ETR Binding Buffer，颠倒混匀7-10次，室温放置5min。
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，8,000 × g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. 加入500ul ETR Wash Buffer到结合柱上，8,000 × g离心1min，使全部液体滤过柱子，弃滤液。
10. 加入500ul Buffer EHB到结合柱上，8,000 × g离心1min，使全部液体滤过柱子，弃滤液；
11. 加入700ul DNA Wash Buffer到结合柱上，8,000 × g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. 加入700ul DNA Wash Buffer到结合柱上，8,000 × g离心1min使全部液体滤过柱子，弃滤液；
13. 把空柱子套回离心管，最大转速（不超过13,000 × g）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30-50ul Endotoxin-Free Elution Buffer，室温放置2-5min，最高转速离心1min洗脱质粒DNA。