

### 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。

D6942-00,D6943-00: 加入8ml无水乙醇

D6942-01,D6943-01: 加入80ml无水乙醇

D6842-02,D6943-02: 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5ml LB/抗生素培养液中，37°C摇床培养12~16 h；
2. 取1.0~5.0ml的菌液，室温下10,000xg离心1min收集细菌。
3. 倒弃培养基。加入250ul Solution I/RNaseA混和液，漩涡振荡使细胞完全悬浮。
4. 往重悬混和液中加入250ul Solution II，轻轻颠倒混匀4-6次。此操作避免剧烈混匀裂解液且裂解反应不要超过5 min。
5. 加入350ul Solution III，温和颠倒数次至形成白色絮状沉淀。
6. 室温下，≥10,000xg离心10min。
7. 转移上清液至套有2ml收集管的HiBind DNA结合柱中，室温下，10,000xg离心1 min，倒去收集管中的滤液。
8. 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。
9. 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无水乙醇稀释。
10. (可选)弃去滤液，重复第9步骤一次。
11. 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——这对去除柱子中残留的乙醇至关重要。
12. 把柱子装在干净的1.5ml离心管上，加入30-50ul Elution Buffer(10mM Tris-HCl, PH8.5)或无菌水到柱子基质中，静置1-2min，10,000xg离心1min洗脱出DNA。

## 快速流程图



## 订货信息

品名	菌液用量	最大结合力	货号 and 次数	价格
Plasmid Mini Kit I	1-5 mL	30 µg	D6942/3-00(5)	¥50
			D6942/3-01(50)	¥199
			D6942/3-02(200)	¥680
Plasmid Mini Kit II	5-15 mL	70 µg	D6945-00(5)	¥85
			D6945-01(50)	¥495
			D6945-02(200)	¥1800
Plasmid Midi Kit	15-50 mL	250 µg	D6904-01(10)	¥500
			D6904-03(25)	¥1170
			D6904-04(100)	¥4050
Plasmid Maxi Kit	50-250 mL	1.0 mg	D6922-01(5)	¥360
			D6922-02(20)	¥1350