

## D6943 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

正确稀释 DNA Wash Buffer.

- 将小瓶的 RNase A 加入到 Solution I 中, 并保存于 2-8°C 冰箱中。
- 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
D6943-00	6mL
D6943-01	120mL
D6943-02	120mL (每瓶)

- 使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释, 稀释后室温保存

货号	加入量
D6943-00	1.6mL
D6943-01	16mL
D6943-02	32mL

- 在使用 Solution II 和 Solution III 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. 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 250μl 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 250μl 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 350μl Solution III, 温和颠倒数次至形成白色絮状沉淀。
6. 室温下, ≥13,000xg 离心 10min。
7. 转移上清液至套有 2mL 收集管的 HiBind® Miniprep DNA 结合柱中, 室温下最大速度离心 1 min, 倒去收集管中的滤液。
8. 把柱子重新装回收集管, 加入 500μl HBC Buffer, 室温下最大速度离心 1 min, 弃去滤液。

Note: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书加入异丙醇稀释。

9. 把柱子重新装回收集管, 加入 700μl DNA Wash Buffer, 室温下最大速度离心 1 min, 弃去滤液。

Note: DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

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, 最大速度离心空柱 2min 以甩干柱子基质。
12. 把柱子装在干净的 1.5mL 离心管上, 加入 30-100 $\mu$ l Elution Buffer 到柱子基质中, 静置 1min, 13,000xg 离心 1min 洗脱出 DNA。
13. 将洗脱的 DNA 保存在-20°C。

中文翻译仅供辅助阅读, 详情请以英文说明书为准