

## D6944 FastFilter Plasmid DNA Mini Kit

### 中文简易说明

- 将 RNase A 加入到 Solution I 中，并保存于 2-8°C 冰箱中。
- 在使用 Solution II 和 GBT Buffer 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。
- 使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释，注意瓶身标识，稀释后室温保存。

货号	加入量
D6944-00/01/02	2/10/32mL

- 使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，注意瓶身标识，稀释后室温保存。

货号	加入量
D6944-00/01/02	10/100/100mL 每瓶

#### 操作步骤：(离心)

1. 从新鲜培养的固体平板中挑取单菌落接种至含有适当的选择性抗生素的 1-5mL 的 LB 培养基中，在 37°C 条件下摇菌 (~300rpm) 培养 12-16h，建议使用 10-20mL 的培养管或一个体积至少为培养液体积 4 倍的烧瓶进行培养。强烈建议使用大肠杆菌 endA 阴性菌株进行常规质粒分离。这类菌株的例子包括 DH5α 和 JM109。
2. 室温下 10,000xg 离心 1min，弃除上清液；
3. 加入 180μl Solution I/RNase A，最大速度涡旋重悬菌株，注意要将菌株彻底打散，否则可能会影响到最终提取结果；
4. 加入 180μl Solution II，轻轻上下颠倒混匀几次，可得到澄清的裂解液，如有必要，可以静置 2-3min；注意避免剧烈震荡，这可能会将染色体 DNA 切断，降低最终质粒的纯度。注意不要让裂解反应超过 5min。
5. 加入 90μl N3 Buffer，立即颠倒混匀几次，直至形成白色絮状沉淀；
6. 加入 160μl GBT Buffer，颠倒混匀数次；
7. 将 HiBind® DNA Mini Column 套入到 2mL 收集管中，将 FastFilter Mini Column 套入到 HiBind® DNA Mini Column 中；
8. 将步骤 6 中的混合液的上清液转移到 FastFilter Mini Column，13,000xg 离心 1min，弃除 FastFilter Mini Column，弃除滤液；
9. 往 HiBind® DNA Mini Column 中加入 200μl 已稀释 HBC Buffer，13,000xg 离心 10s；加入 400μl 已稀释 DNA Wash Buffer，13,000 离心 2min；
10. 将 HiBind® DNA Mini Column 套入到 1.5mL 离心管中，加入 50-100μl Elution Buffer 至柱子中央，13,000xg 离心 1min，将 DNA 保存于 -20°C。

(中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准)