Plazmid izolálás Zyppy Plasmid Miniprep Kit-tel (D4036)

Preparáció:

1) A Zyppy Wash buffer már tartalmazza az alkoholt

2) A 7x Lysis buffert 30-37C -on inkubálni kell 30 percig és inverzióval meg kell keverni.

Izolálás:

1) Adjunk 600 ul bacikat tartalmazó LB médiumot (vagy szuszpendáljuk fel a bacikat 600ul TE bufferben vagy akár desztvízben) egy 1.5ml eppendorf csőbe

2) Adjunk hozzá 100 ul 7x (kék) lysis buffert és keverjük meg 4-6 x invertálással (Az oldat színének tiszta kékké változása jelzi a teljes lízist)

3) 2 percen belül!! Adjunk hozzá 350 ml (sárga) HIDEG Neutralization Buffer-tés keverjük meg alaposan. Az oldat színe sárgára változik és sárgás üledék képződik, amikor teljes a neutralizáció. Azért 2-3x még invertáljuk a csövet hogy biztosak legyünk a teljes neutralizációban

4) Centrifugáljuk 11-16000 szeresen 2-4 percig

5) A felülúszót (k.b. 900 ul) vigyük át a sejt pellet megzavarása nélkül a KIT centrifuga oszlopába.

6) Helyezzük be a gyüjtő centrifuga csőbe és centrifugáljuk 15 másodpercig

7) Dobjuk el az átfolyót és helyezzük vissza az oszlopot a gyüjtő csőbe

8) Adjunk 200 ul Endo-Wash oldatot a csőbe és centrifugáljuk 30 másodpercig. Nem szükséges az átfolyót eltávolítani

9) Adjunk 400 ul Zyppy Wash Buffert a csőbe és centrifugáljuk 1 percig.

10) Az oszlopot tegyük egy tiszta 1,5 ml eppendorf csőbe, adjunk hozzá 30 ul Elution Buffer-t és hagyjuk állni 1 percig szobahőmérsékleten.

11 Centrifugéljuk 30 másodpecig hogy kinyerjük a plasmid DNS-t.