

## Plasmid Aufreinigung mit Zentrifugation

### 1. Ernte

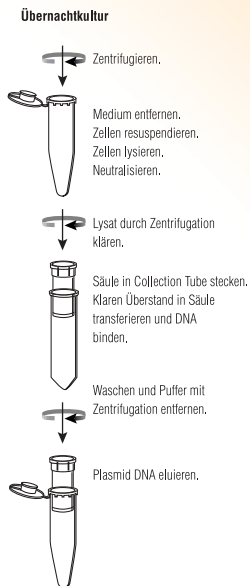
1-10ml Bakterienkultur zentrifugieren  
(**2 min bei 10000 g, Mikrozentrifuge**), Überstand verwerfen.

### 2. Lyse und Fällung

- 2.1 Zellpellet mit **250 µl Cell Resuspension Solution** vollständig resuspendieren.
- 2.2 **250 µl Cell Lysis Solution** zugeben, gründlich mischen, 3 min inkubieren.
- 2.3 **10 µl Alkaline Protease Solution** zugeben, gründlich mischen, 5min inkubieren.
- 2.4 **350 µl Neutralization Solution** zugeben, gründlich mischen.
- 2.5 **10 min bei 14000 g** zentrifugieren.

### 3. Aufreinigung mit Zentrifugation

- 3.1 Spin Column in Collection Tube stecken.
- 3.2 Überstand aus Schritt 2.5 in Spin Column transferieren.
- 3.3 **1 min bei 14000 g** zentrifugieren, Durchlauf verwerfen. Säulenkombination wieder zusammen stecken.
- 3.4 **750 µl Column Wash Solution** auf Spin Column geben.
- 3.5 **1 min bei 14000 g** zentrifugieren, Durchlauf verwerfen, Säulenkombination wieder zusammen stecken.
- 3.6 **250 µl Column Wash Solution** auf Spin Column geben.
- 3.7 **1 min bei 14000 g** zentrifugieren, Durchlauf verwerfen, Säulenkombination wieder zusammenstecken.
- 3.8 **2 min bei 14000 g** zentrifugieren, Spin Column auf ein neues steriles 1,5 ml Tube stecken.
- 3.9 **25-100 µl (Standard 50 µl) Nuclease-Free Water** auf die Membran der Spin Column geben, 2 min warten.
- 3.10 **1 min bei 14000 g** zentrifugieren; Spin Column verwerfen, Tube verschließen und bei 4°C oder -20°C lagern.



1581MB09\_9A

Weitere Informationen im Technical Bulletin #TB225, auf Nachfrage bei Promega erhältlich oder online unter [www.promega.com](http://www.promega.com)

- Alle Schritte bei **Raumtemperatur**. Achtung: **keine** gekühlte Zentrifuge verwenden.
- Entsprechende Menge **Ethanol** vor der ersten Verwendung zum Puffer (Column Wash) geben.
- Puffer vor dem Verwenden auf **Raumtemperatur bringen und gut schütteln**.

## Plasmid Aufreinigung mit Vakuum

### 1. Ernte

1-10 ml Bakterienkultur zentrifugieren (**2 min bei 10000 g, Mikrozentrifuge**), Überstand verwerfen.

### 2. Lyse und Fällung

**2.1** Zellpellet mit **250 µl Cell Resuspension Solution** vollständig resuspendieren.

**2.2** **250 µl Cell Lysis Solution** zugeben, gründlich mischen, 3 min inkubieren.

**2.3** **10 µl Alkaline Protease Solution** zugeben, gründlich mischen, 5 min inkubieren.

**2.4** **350 µl Neutralization Solution** zugeben, gründlich mischen.

**2.5** **10 min bei 14000 g** zentrifugieren.

### 3. Aufreinigung mit Vakuum

**3.1** Adapter auf Vakuum-Station drehen, Spin Column in Adapter stecken.

**3.2** Überstand aus Schritt 2.5 in Spin Column transferieren.

**3.3** Vakuum anlegen und Lysat durchsaugen. [Vakuum angelegt lassen]

**3.4** **750 µl Column Wash Solution** durchsaugen. [Vakuum angelegt lassen]

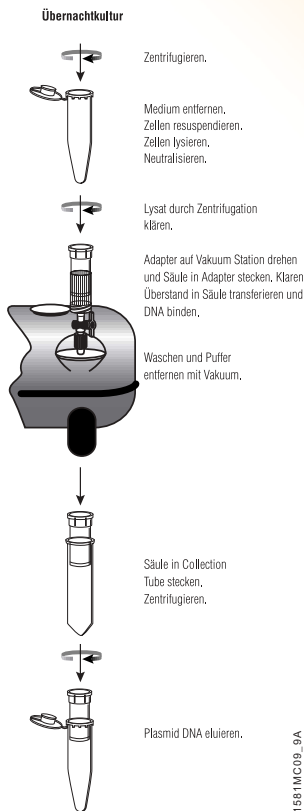
**3.5** **250 µl Column Wash Solution** durchsaugen, Vakuum abschalten.

**3.6** Spin Column in Collection Tube stecken, **2 min bei 14000 g** zentrifugieren.

**3.7** Spin Column auf ein neues steriles 1,5ml Tube stecken.

**3.8** **25-100 µl (Standard 50 µl) Nuclease-Free Water** auf die Membran der Spin Column geben, 2 min warten.

**3.9** **1 min bei 14000 g** zentrifugieren; Spin Column verwerfen, Tube verschließen und bei 4°C oder -20°C lagern.



1581MC09\_9A