

Plasmid spin miniprep kit manual (up to 30 ug)

Инструкция к набору для выделения плазмидной ДНК  
(spin-miniprep до 30 мкг)



## Contents

English: Plasmid spin miniprep kit manual (up to 30 ug) .....	3-4
Русский: Инструкция к набору для выделения плазмидной ДНК (spin-miniprep до 30 мкг) .....	5-6

**Lumiprobe Corporation**  
(US and Worldwide)  
9:00AM - 9:00PM EST

201 International Circle, Suite 135  
Hunt Valley, Maryland 21030  
USA

Phone: +1 888 973 63 53

**Lumiprobe GmbH**  
(Germany and Europe)  
9:00AM - 5:00PM CE(S)T

Feodor-Lynen-Strasse 23  
30625 Hannover  
Germany

Phone: +49 511 16596811

**Biotech Industry Ltd**  
(Russia and CIS)  
9:00 - 18:00 GMT+3 (Moscow)

Leninskie Gory, 1, bld. 75  
119992 Moscow  
Russian Federation

Phone: +7 495 973 6353



ISO 9001:2015

The certificate No.: 12 100  
52989 TMS  
Issued by TÜV SÜD  
Management Service GmbH

# Plasmid spin miniprep kit manual (up to 30 ug)

## Plasmid DNA purification protocol

### Before you start:

Add RNase A to the resuspension solution and mix (for more complete transfer of RNase A, wash the RNase A tube with a small amount of resuspension solution). To make wash solution concentrate ready add 40 ml of ethanol to 10 ml of wash solution concentrate and mix. Put marks on the lids of vials with a resuspension and washing solution.

Make sure that there is no precipitate in the lysis and neutralising solutions. If precipitate is visible, heat to 50°C in a water bath until the precipitate is completely dissolved.

Do not use more than 30 optical units of cultures for plasmid isolation (eg 15 ml a culture with OD600 equal to 2). If necessary to use more cells for plasmid purification you should proportionately increase the volumes of resuspension, lysis and neutralising solutions, and apply the supernatant several times on the column.

1. Centrifuge 2.5-7 ml of an overnight culture of bacteria (10-15 ml for low copy plasmids) at 5,000 rpm (4500g) for 5 minutes (or at 13000 rpm (<10000g) for 1 minute).
2. Carefully remove the supernatant. Resuspended the pellet in 250  $\mu$ l of resuspension solution and transfer it to a 1.5 ml tube.
3. Add 250  $\mu$ l of the lysis solution to the cell suspension, mix carefully by inverting the tube about 6 times (In case of using 10-15 ml of the culture, the five inverting may not be enough. In this case, the contents of the test tubes must be turned several times rapidly. Do not use vortex for mixing. The solution after this step should not be cloudy, it must be translucent and viscous.)
4. Add 350  $\mu$ l of neutralizing solution, gently mix by inverting the tube 10 times (if using 10-15 ml of the culture, shake the tubes for a few seconds; white flakes are formed in solution after mixing).
5. Centrifuge 10 000 - 13 000 rpm for 5 minutes.
6. Place the columns into the collection tubes. Transfer the supernatant into the column.
7. Centrifuge 10 000 - 13 000 rpm for 30 to 45 seconds. Discard the flow-through and place the column back into the same collection tube.

*Optional. To completely remove the nuclease, when isolating from end A + strains and removing endotoxins, add 500  $\mu$ l washing solution with guanidium chloride (use of this solution may result in a 20% reduction in yield). Centrifuge 10 000 - 13 000 rpm for 60 seconds. Discard flow-through.*

8. Add into the column 500  $\mu$ l of washing solution with ethanol. Centrifuge 10 000 - 13 000 rpm for 30 - 45 seconds. Discard flow-through. Repeat this step one more time.
9. After discarding the flow-through, place empty columns into same collection tubes and centrifuge 10 000 to 13 000 rpm for 30 - 45 seconds.
10. Place the columns in a new 1.5 ml tubes, add 50-100  $\mu$ l of the Elution buffer into the center of column filter (If 50  $\mu$ l of the elution buffer is used, the maximum concentration will be obtained; if 100  $\mu$ l of the Elution buffer is used, the maximum yield will be obtained), incubate 1 min at room temperature. Centrifuge 10 000 - 13 000 rpm for 1 minute.

**Also important!**When DNA concentration measuring on a cuvette, a DNA sample should be diluted 10-20 times with TE buffer pH 8.5 or with an elution buffer (do not use water), otherwise the measurements will be inaccurate.

# Инструкция к набору для выделения плазмидной ДНК (spin-*mini*prep до 30 мкг)

Данный набор предназначен для быстрого выделения высокоочищенной плазмидной ДНК (до 30 мкг) из культуры клеток *Escherichia coli* на spin-колонках. Очищенная плазмидная ДНК пригодна для любых молекулярно-биологических работ.

## Состав набора:

Название компонента	Количество	
	10 выделений	50 выделений
Раствор для ресуспендирования	5 мл	15 мл
РНКаза А (10 мг/мл)	50 мкл	150 мкл
Лизирующий раствор	7.5 мл	15 мл
Нейтрализующий раствор	3 мл	15 мл
Промывочный раствор (с Гуанидиний хлоридом)	6 мл	30 мл
Промывочный раствор (концентрат для добавления EtOH)	10 мл	20 мл
Элюирующий раствор	2 мл	10 мл
Колонки с сорбентом	10 шт	50 шт
Пробирки для сбора проскока	10 шт	50 шт

Хранить при комнатной температуре. Срок хранения — 1 год.

## Протокол выделения плазмидной ДНК.

**Перед началом работы:** Добавьте в ресуспендирующий раствор РНКазу А, перемешайте (для более полного переноса РНКаза А следует омыть пробирку с РНКазой А небольшим количеством ресуспендирующего раствора); добавьте к 10 мл концентрата промывочного раствора 40 мл этанола, перемешайте. Поставьте отметки на крышках сосудов с ресуспендирующим и промывочным растворами.

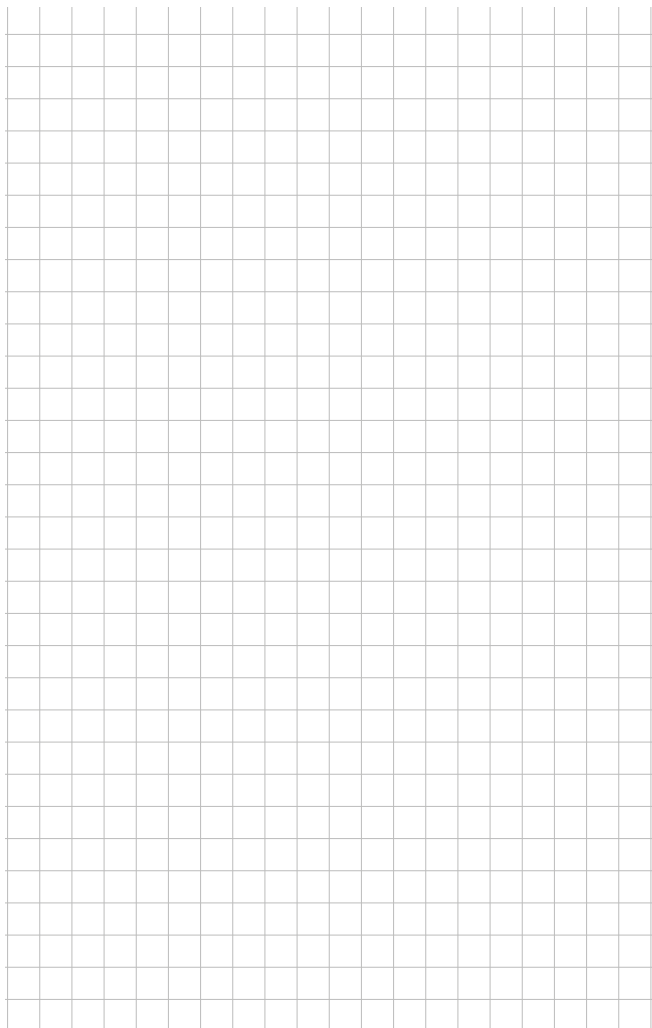
Убедитесь в отсутствии осадка в лизирующем и нейтрализующим растворах, при наличии осадка подогрейте до 50°C на водяной бане до полного растворения осадка.

Не используйте для выделения более 30 ОЕ культуры (например 15 мл при плотности культуры на 600 нм 20Е). В случае необходимости использовать большее количество клеток для выделения плазмиды, следуеткратно увеличить объемы ресуспендирующего, лизирующего и нейтрализующего растворов, и соответственно несколько раз наносить надосадочную жидкость на колонку.

1. 2.5-7 мл ночной культуры бактерий (10-15 мл для низкокопийных плазмид) центрифугировать на 5 000 об/мин (4500g) 5 мин (или на 13000 об/мин (<10000g) 1 мин).

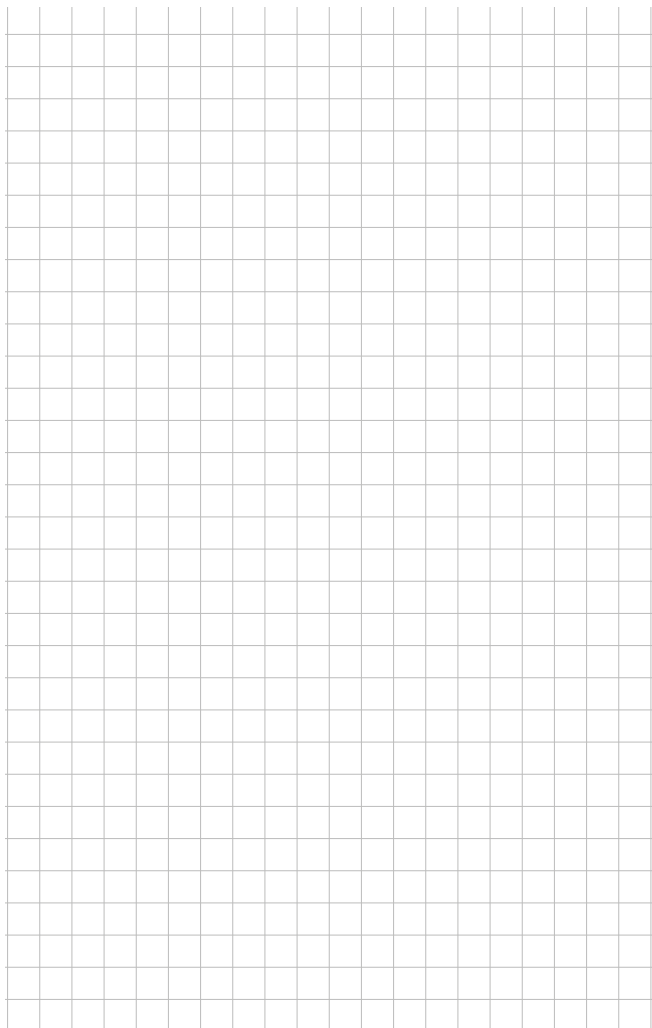
- Осадок, хорошо очищенный от культуральной жидкости, тщательно ресуспендировать в **250 мкл раствора для ресуспендирования** и перенести в 1.5 мл пробирку.
- К суспензии клеток добавить **250 мкл лизирующего раствора**, аккуратно перемешать путем переворачивания пробирки около 6 раз (в случае использования 10-15 мл культуры 5 перемешиваний инвертированием может не хватить. В этом случае следует еще несколько раз резко перевернуть содержимое. В то же время нельзя использовать вортекс для перемешивания. Раствор после этого шага не должен быть мутным. Он должен быть полупрозрачным и вязким.).
- Добавить **350 мкл нейтрализующего раствора**, аккуратно перемешать путем переворачивания пробирки 10 раз (в случае использования 10-15 мл культуры после перемешивания необходимо несколько секунд встряхнуть содержимое пробирок. После этого этапа в пробирке должны плавать белые хлопья).
- Центрифугировать 5 мин, 10 000 - 13 000 об/мин.
- Колонки поместить в пробирки для сбора проскока. **Надосадочную жидкость** нанести на колонку.
- Центрифугировать 30 - 45 сек, 10 000 - 13 000 об/мин. Проскок с колонки вылить.  
*Опционально. Для полного удаления нуклеаз при выделении из end A+ штаммов и удаления эндотоксинов нанести на колонку 500 мкл промывочного раствора с гуанидиний хлоридом (Использование этого раствора может приводить к 20% снижению выхода.). Центрифугировать 60 сек, 10 000 - 13 000 об/мин. Проскок с колонки вылить.*
- Нанести на колонку **500 мкл промывочного раствора 1**. Центрифугировать 30 - 45 сек, 10 000 - 13 000 об/мин. Проскок с колонки вылить. **Повторить** промывку, описанную в данном пункте, еще один раз.
- После удаления проскока поместить пустые колонки в пробирках для сбора проскока в центрифугу и центрифугировать 30 - 45 сек, 10 000 - 13 000 об/мин.
- Колонки поместить в новые 1.5 мл пробирки, нанести в центр фильтра колонки **50-100 мкл элюирующего** раствора (при элюции 100 мкл — выход максимален, при элюции 50 мкл максимальна концентрация), инкубировать 1 мин при комнатной температуре. Центрифугировать 2 мин, 10 000 - 13 000 об/мин.

**Также важно!** При измерении концентрации ДНК на кюветном спектрофотометре следует развести образец ДНК в 10-20 раз буфером TE с pH 8,5 или элюирующим раствором (не используйте воду), иначе измерения будут неточными.











## **Lumiprobe Corporation**

(US and Worldwide)

9:00AM - 9:00PM EST

201 International Circle, Suite 135  
Hunt Valley, Maryland 21030  
USA

Phone: +1 888 973 63 53

## **Lumiprobe GmbH**

(Germany and Europe)

9:00AM - 5:00PM CE(S)T

Feodor-Lynen-Strasse 23  
30625 Hannover

Germany

Phone: +49 511 16596811

## **Biotech Industry Ltd**

(Russia and CIS)

9:00 - 18:00 GMT+3 (Moscow)

Leninskie Gory, 1, bld. 75

119992 Moscow

Russian Federation

Phone: +7 495 973 6353



ISO 9001:2015

The certificate No.: 12 100 52989 TMS  
Issued by TÜV SÜD Management Service GmbH

[www.lumiprobe.com](http://www.lumiprobe.com)

