

弊社推奨注入 DNA 精製方法：

- 1) Super Broth 100 ml で、目的 Plasmid を持った大腸菌を培養する.
- 2) アルカリ SDS 法により DNA を抽出する.
- 3) フェノールクロロホルム抽出を 2 回行う.
- 4) エタノール沈殿する.
- 5) TE 1 ml に溶解する.
- 6) RNase で処理する.
- 7) PEG 沈殿する.
- 8) フェノールクロロホルム抽出を 2 回行う.
- 9) イソプロパノール沈殿する.
- 10) TE 2 ml に溶解する.
- 11) CsCl 法で超遠心分画する.
- 12) TE で 750 μ l にする
- 13) 1-ブタノールで EtBr を除去する.
- 14) TE で 1.5 ml にする
- 15) TE buffer で透析する.
- 16) フェノールクロロホルム抽出を 2 回行う.
- 17) エタノール沈殿する.
- 18) TE 100~200 μ l に溶解する.
- 19) Plasmid DNA 約 10 μ g を制限酵素で切断する.
- 20) フェノールクロロホルム抽出を 2 回行う.
- 21) エタノール沈殿する.
- 22) SeaKem GTG agarose gel (FMC BioProducts)を用い、目的 DNA 断片を Vector 部分と分離する.
- 23) GeneClean II Kit (BIO101) を用い、目的 DNA 断片を精製する.
(glass milk の混入を少なく)
- 24) TE 20 μ l に溶解する.
- 25) 吸光度 OD 260 nm、電気泳動で DNA 濃度を確認する.
- 26) 50 μ g/ml であることを確認し、
全量で 10 μ l 以上をドライアイスで保冷し、発送して下さい.