
Arbeitsanleitung – Instruction Manual

peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I
(Classic-Line & Safety-Line)



INHALT

EINLEITUNG	1
FUNKTIONSPRINZIP	1
KITBESTANDTEILE	2
LAGERUNG	2
WICHTIGE HINWEISE	3
GEFÄHRLICHE INHALTSSTOFFE	4
PEQGOLD PLASMID MINIPREP I ISOLIERUNGSPROTOKOLLE	6
A. High Copy-Number Plasmide	6
B. Low Copy-Number Plasmide	8
QUANTIFIZIERUNG DER PLASMID-DNA	11
LAGERUNG DER DNA	11
BESTELLINFORMATIONEN	12
TROUBLESHOOTING TIPS	13

CONTENT

INTRODUCTION	14
PRINCIPLE	14
KIT COMPONENTS	15
STORAGE AND STABILITY	15
BEFORE STARTING	16
DANGEROUS COMPONENTS	17
PEQGOLD PLASMID MINIPREP KIT I PROTOCOL	19
A. High Copy-Number Plasmids	19
B. Low Copy-Number Plasmids	22
YIELD AND QUALITY OF DNA	24
STORAGE OF DNA	24
ORDERING INFORMATION	25
TROUBLESHOOTING TIPS	26
APPENDIX	27

EINLEITUNG

Der peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I bietet eine schnelle und einfache Methode, um in weniger als 15 Minuten bis zu 25 µg hochreiner Plasmid-DNA zu isolieren. Er gestattet die Bearbeitung einzelner oder zahlreicher Proben, wobei jeweils bis zu 10 ml Bakterienkultur eingesetzt werden können. Extraktionen mit organischen Lösungsmitteln, wie Phenol oder Chloroform, müssen ebenso wenig durchgeführt werden, wie zeitaufwendige Fällungen mit Ethanol oder Isopropanol. Die im Einzelfall erzielbaren DNA-Erträge hängen von der Zahl der Plasmidkopien je Zelle, der Insertgröße, dem jeweiligen *E.coli*-Stamm und den gewählten Wachstumsbedingungen ab. Typischerweise können aus 5 ml einer Übernachtskultur mit High Copy-Number Plasmiden 15 bis 25 µg DNA erhalten werden. Für die Präparation größerer DNA-Mengen empfiehlt sich die Verwendung des peqGOLD Plasmid Miniprep Kits II, bei dem größere Kulturvolumina eingesetzt und aus einem Ansatz bis zu 75 µg Plasmid-DNA isoliert werden können.

Plasmid-DNA, die mit dem peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I isoliert wurde, kann für alle Arten von Folgeexperimenten, wie z.B. Klonierungs-Screenings, Restriktionsanalysen, manuelle und automatische Sequenzierungen und *in vitro*-Transkriptionen weiterverwendet werden.

peqGOLD Plasmid Mini Kits I werden wahlweise mit Safety-Line oder mit Classic-Line Säulen geliefert (Safety-Line, Best.-Nr. 12-6943-xx oder Classic-Line, Best.-Nr. 12-6942-xx). Schnappdeckel sorgen bei den Safety-Line Säulen für einen sicheren Verschluss und für einen zusätzlichen Schutz vor Kreuzkontaminationen. Classic-Line Säulen haben keinen Deckel und erleichtern so das Handling.

FUNKTIONSPRINZIP

Der peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I kombiniert eine modifizierte alkalische Lyse mit den selektiven und reversiblen DNA-Bindungseigenschaften von PerfectBind-Silikamembranen und der Schnelligkeit und leichten Durchführbarkeit von Zentrifugationssäulenmethoden.

In der PerfectBind DNA Column bindet die Plasmid-DNA an die enthaltene Silikamembran und kann durch einfaches Waschen von Kontaminationen und Enzyminhibitoren gereinigt werden. Im Anschluss an das Trocknen der PerfectBind DNA Column wird die saubere Plasmid-DNA mit Elution Buffer oder Wasser eluiert.

KITBESTANDTEILE

peqGOLD Plasmid Miniprep Kits I	5 Reinigungen	50 Reinigungen	200 Reinigungen
Best.-Nr. Classic-Line	12-6942-00	12-6942-01	12-6942-02
Best.-Nr. Safety-Line	12-6943-00	12-6943-01	12-6943-02
Bestandteile			
PerfectBind DNA Columns	5	50	200
2.0 ml Collection Tubes	5	50	200
Solution I	5 ml	20 ml	60 ml
Solution II	5 ml	20 ml	60 ml
Solution III	5 ml	20 ml	80 ml
PW Plasmid Buffer	5 ml	30 ml	110 ml
DNA Wash Buffer (Konz.)	12 ml	40 ml	3 x 40 ml
RNase A	25 µl	70 µl	200 µl
Elution Buffer (5 mM Tris-HCl, pH 8.5)	1.5 ml	15 ml	60 ml
Arbeitsanleitung	1	1	1

LAGERUNG

Die Aufbewahrung von RNase A und mit RNase A komplettierter Solution I sollte bei 4 °C, die aller anderen Komponenten des peqGOLD Plasmid Miniprep Kits I bei Raumtemperatur erfolgen. Bei entsprechender Lagerung bleiben alle Komponenten des Kits für mindestens 12 Monate ab Lieferung stabil.

WICHTIGE HINWEISE

Bitte lesen Sie das vorliegende Protokoll vor der ersten Verwendung des Kits vollständig durch und legen Sie vor Präparationsbeginn alle für die Isolierung benötigten Materialien bereit.





- ! Solution I muss vor ihrer ersten Verwendung durch Zugabe von RNase A komplettiert werden. Dazu gesamten Inhalt des RNase A Tubes in die Flasche mit Solution I pipettieren und sorgfältig mischen. Die komplettierte Solution I sollte bei 4 °C gelagert werden.
- ! Solution II muss zwischen zwei Präparationen immer dicht verschlossen sein.
- ! DNA Wash Buffer wird als Konzentrat geliefert und muss vor seiner ersten Verwendung mit absolutem Ethanol verdünnt werden:

12-6942-00	12 ml DNA Wash Buffer mit 18 ml 100 % EtOH mischen.
12-6943-00	
12-6942-01	40 ml DNA Wash Buffer mit 60 ml 100 % EtOH mischen.
12-6943-01	
12-6942-02	3 x 40 ml DNA Wash Buffer mit 3 x 60 ml 100 % EtOH mischen.
12-6943-02	

- ! Verdünnter DNA Wash Buffer sollte bei Raumtemperatur gelagert werden.
- ! Alle Präparations- und Zentrifugationsschritte müssen bei Raumtemperatur ausgeführt werden.

GEFÄHRLICHE INHALTSSTOFFE

peqGOLD Plasmid Miniprep I Kit

Bestandteile	Signalwort / Symbole	Gefährliche Inhaltsstoffe	H- und P-Sätze
PerfectBind DNA Columns	-	-	-
2.0 ml Collection Tubes	-	-	-
Solution I	-	-	-
Solution II	DANGER 	sodium dodecyl sulphate 1-≤2.5%, sodium hydroxide 0.5- <1%, CAS: 151-21-3, 1310-73-2	H314, P101, P102, P103, P260, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P405, P501
Solution III	DANGER 	guanidinium chloride 25-50%, acetic acid 10-<25%, CAS: 50-01-1, 64-19-7	H302, H315, H318, P101, P102, P103, P280, P264, P305+P351+P338, P362, P403+P233, P501
PW Plasmid Buffer	DANGER 	guanidinium chloride 25-50%, propan-2-ol 25-50%, CAS: 50-01-1, 67-63-0	H225, H302, H315, H319, H336, P101, P102, P103, P210, P261, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P405, P501
DNA Wash Buffer (Konz.)	-	-	-
RNase A	DANGER 	Nuclease, ribo- 20 mg/ml, CAS: 9001-99-4	H317, H334, P261S, P280sh, P302+P352, P304+P340, P333+P313, P342+P311, P363
Elution Buffer (5 mM Tris-HCl, pH 8.5)	-	-	-

H- und P-Sätze	Erläuterungen
H225	Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H302	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
H314	Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
H315	Verursacht Hautreizungen.
H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
H318	Verursacht schwere Augenschäden.
H319	Verursacht schwere Augenreizung.
H334	Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.
H336	Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
P101	Ist ärztlicher Rat erforderlich, Verpackung oder Kennzeichnungsetikett bereithalten.
P102	Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
P103	Vor Gebrauch Kennzeichnungsetikett lesen.
P210	Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellenarten fernhalten. Nicht rauchen.
P260	Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
P261	Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.
P261S	Einatmen von Staub vermeiden
P264	Nach Handhabung ... gründlich waschen.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P280sh	Schutzhandschuhe/Augenschutz tragen.
P302+P352	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser/... waschen.
P303+P361+P353	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen.
P304+P340	BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.
P305+P351+P338	BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
P333+P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P342+P311	Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt/... anrufen.
P362	Kontaminierte Kleidung ausziehen.
P363	Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.
P403+P233	An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Behälter dicht verschlossen halten.
P405	Unter Verschluss aufbewahren.
P501	Inhalt/Behälter ... zuführen.

PEQGOLD PLASMID MINIPREP I ISOLIERUNGSPROTOKOLLE

Benötigte Materialien, die nicht im Lieferumfang enthalten sind:

- ! 100 % Ethanol
- ! Steriles, deionisiertes Wasser (optional)
- ! Sterile Pipettenspitzen und Zentrifugenröhrchen

A. High Copy-Number Plasmide

1. Anzucht der Bakterien

5 ml LB-Medium in einen 10 bis 20 ml fassenden Kolben füllen und mit geeignetem Antibiotikum versetzen (z.B. 50 µg/ml Ampicillin). Komplettiertes Medium mit *E.coli*-Bakterien animpfen, die das gewünschte Plasmid tragen, und für 12 bis 16 Stunden bei 37 °C auf einem Schüttler inkubieren.

1.5 bis 5 ml Übernachtskultur durch Zentrifugieren für 1 Minute bei 10.000 x g* in 1.5 ml Zentrifugenröhrchen oder für 10 Minuten bei 5.000 x g* in 15 ml Zentrifugenröhrchen pelletieren. Überstand abnehmen und verwerfen.

Für die Präparation von High Copy-Number Plasmiden sollten maximal 5 ml Kultur eingesetzt werden, da sonst die Bindungskapazität der PerfectBind DNA Column überschritten wird. Der erzielbare Ertrag von High Copy-Number Plasmiden liegt in der Regel bei 15 bis 25 µg (3 bis 5 µg/ml Kultur). Werden größere Plasmidmengen benötigt, sollte der peqGOLD Plasmid Miniprep Kit II (Best.-Nr. 12-6945 / 12-6946) verwendet werden, bei dem aus 10 bis 15 ml Kultur 40 bis 75 µg Plasmid-DNA isoliert werden können.

2. Lyse der Bakterien

Bakterienpellet durch sorgfältiges Vortexen in 250 µl Solution I/RNase A resuspendieren.

Das vollständige Resuspendieren der pelletierten Bakterien ist für gute Plasmiderträge von entscheidender Bedeutung!

250 µl Solution II zugeben und durch sechs- bis zehnmaliges Invertieren des Tubes mischen, bis ein klares Lysat entsteht. Unter Umständen kann hierfür auch noch eine zusätzliche zweiminütige Inkubation bei Raumtemperatur erforderlich sein.

Heftiges Mischen oder Vortexen sollte unbedingt vermieden werden, da dies zum Scheren der chromosomalen DNA und dadurch zu einer Verschlechterung der Plasmidqualität führen kann. Es muss darauf geachtet werden, dass Solution II während der Lagerung stets dicht verschlossen ist.

* Umrechnung g (rcf) / rpm siehe Appendix, S. 27

3. Neutralisierung des Lysats

Das aufgeklärte Lysat mit 350 µl Solution III versetzen und durch sechs- bis zehnmaliges Invertieren mischen, bis sich ein weißes, flockiges Präzipitat bildet. Tube danach für 5 bis 10 Minuten bei 10.000 x g* zentrifugieren.

4. Laden und Binden

Eine PerfectBind DNA Column in ein 2.0 ml Collection Tube stecken und den klaren Überstand vorsichtig in die PerfectBind DNA Column füllen, ohne dabei Teile des Debris pellets aus Schritt 3 zu übertragen. Für 1 Minute bei 10.000 x g* zentrifugieren, bis das Lysat vollständig die Silikamembran passiert hat. Den Säulendurchfluss verwerfen und das Collection Tube weiterverwenden.

5. Waschen I (optional)

Die PerfectBind DNA Column in das bereits verwendete 2.0 ml Collection Tube zurückstecken und 500 µl PW Plasmid Buffer auf die PerfectBind DNA Column pipettieren. Für 1 Minute bei 10.000 x g* zentrifugieren. Den Säulendurchfluss verwerfen und das Collection Tube im nächsten Schritt weiterverwenden.

Das Waschen der an die Perfect Bind Silikamatrix gebundenen Plasmid-DNA mit PW Plasmid Buffer ermöglicht eine besonders effiziente Entfernung von Proteinkontaminationen und ist besonders für sensitive Folgeexperimente zu empfehlen. Für Standardfolgeanwendungen wie Klonierungs-Screenings kann auf diesen Schritt verzichtet werden.

6. Waschen II

Die PerfectBind DNA Column wieder in das bereits verwendete 2.0 ml Collection Tube zurückstecken und 750 µl des mit absolutem Ethanol komplettierten DNA Wash Buffers auf die PerfectBind DNA Column pipettieren. Für 1 Minute bei 10.000 x g* zentrifugieren. Den Säulendurchfluss verwerfen und das Collection Tube weiterverwenden.

Komplettierter DNA Wash Buffer, der im Kühlschrank aufbewahrt wurde, muss vor seiner Verwendung zunächst auf Raumtemperatur gebracht werden.

7. Waschen III (optional)

Nochmals mit 750 µl DNA Wash Buffer waschen, wie in Schritt 6 beschrieben.

8. Trocknen (Essentieller Schritt! Zeit nicht verkürzen!)

Die PerfectBind DNA Column in das geleerte 2.0 ml Collection Tube stecken und durch zweiminütiges Zentrifugieren bei 10.000 x g* vollständig trocknen.

* Umrechnung g (rcf) / rpm siehe Appendix, S. 27

9. Elution

Die PerfectBind DNA Column in ein sauberes 1.5 ml Zentrifugenröhrchen stecken und die Plasmid-DNA abhängig von der gewünschten Konzentration mit 50 µl bis 100 µl Elution Buffer oder sterilem Wasser eluieren. Dazu die Lösung direkt auf die Matrix pipettieren und anschließend für 1 Minute bei 5.000 x g* zentrifugieren.

Bei erwarteten Erträgen > 15 µg kann zur vollständigen Rückgewinnung der Plasmid-DNA eine zweite Elution notwendig sein. Dabei ist zu berücksichtigen, dass zwar der absolute Ertrag verbessert wird, die DNA-Konzentration jedoch sinkt, da schon bei der ersten Elution mehr als 80 % der gereinigten Plasmid-DNA zurückgewonnen werden. Für die zweite Elution kann auch das erste Eluat verwendet werden. Dadurch wird der Gesamtertrag etwas verbessert, bleibt aber ca. 30 % hinter dem Ertrag zurück, der bei einer Nachelution mit frischem Wasser oder TE-Puffer erreicht werden kann. Statt einer zweiten Elution kann die DNA auch direkt in einem größeren Volumen Wasser oder TE-Puffer eluiert werden.

B. Low Copy-Number Plasmide

1. Anzucht der Bakterien

10 ml LB-Medium in einen 20 bis 50 ml fassenden Kolben füllen und mit geeignetem Antibiotikum versetzen (z.B. 50 µg/ml Ampicillin). Komplettiertes Medium mit *E.coli*-Bakterien animpfen, die das gewünschte Plasmid tragen, und für 12 bis 16 Stunden bei 37 °C auf einem Schüttler inkubieren.

5 oder 10 ml Übernachtskultur durch Zentrifugieren für ca. 1 Minute bei 10.000 x g* in mehreren 1.5 oder 2 ml Zentrifugenröhrchen oder für 10 Minuten bei 5.000 x g* in einem 15 ml Zentrifugenröhrchen pelletieren. Überstand abnehmen und verwerfen.

Für die Präparation von Low Copy-Number Plasmiden sollten nicht mehr als 10 ml Kultur eingesetzt werden, da sonst die Bindungskapazität der PerfectBind DNA Column überschritten wird. Die erzielbare Ausbeute liegt bei Low Copy-Number Plasmiden in der Regel bei 2 bis 8 µg (0.2 bis 0.8 µg/ml Übernachtskultur). Werden größere Plasmidmengen benötigt, empfiehlt sich die Verwendung des peqGOLD Plasmid Miniprep Kits II (Best.-Nr. 12-6945 / 12-6946), bei dem aus 25 bis 100 ml Übernachtskultur 20 bis 70 µg DNA isoliert werden können.

2. Lyse der Bakterien

Das Bakterienpellet durch sorgfältiges Vortexen in 250 µl (für 5 ml Übernachtskultur) oder 500 µl (für 10 ml Übernachtskultur) Solution I/RNase A resuspendieren.

Das vollständige Resuspendieren des Bakterienpellets ist für gute Plasmiderträge von entscheidender Bedeutung!

* Umrechnung g (rcf) / rpm siehe Appendix, S. 27

250 µl (für 5 ml Übernachtskultur) oder 500 µl (für 10 ml Übernachtskultur) Solution II zugeben und durch sechs- bis zehnmalsiges Invertieren des Tubes mischen, bis ein klares Lysat entsteht.

Unter Umständen kann hierfür eine zusätzliche zweiminütige Inkubation bei Raumtemperatur erforderlich sein.

Heftiges Mischen oder Vortexen sollte unbedingt vermieden werden, da dies zum Scheren der chromosomalen DNA und dadurch zu einer Verschlechterung der Plasmidqualität führen kann. Es muss darauf geachtet werden, dass Solution II während der Lagerung stets dicht verschlossen ist.

3. Neutralisierung des Lysats

Klares Lysat mit 350 µl (für 5 ml Übernachtskultur) oder 700 µl (für 10 ml Übernachtskultur) Solution III versetzen und durch sechs- bis zehnmalsiges Invertieren mischen, bis sich ein weißes, flockiges Präzipitat bildet. Tube danach für 5 bis 10 Minuten bei 10.000 x g* zentrifugieren.

4. Laden und Binden

Eine PerfectBind DNA Column in ein 2.0 ml Collection Tube stecken und klaren Überstand vorsichtig in die PerfectBind DNA Column füllen, ohne dabei Teile des Debris pellets aus Schritt 3 zu übertragen. Für 1 Minute bei 10.000 x g* zentrifugieren, bis das Lysat vollständig die Silikamembran passiert hat. Säulendurchfluss verwerfen und Collection Tube weiterverwenden.

5. Waschen I (optional)

Die PerfectBind DNA Column in das 2.0 ml Collection Tube zurückstecken, 500 µl PW Plasmid Buffer auf die PerfectBind DNA Column pipettieren und für 1 Minute bei 10.000 x g* zentrifugieren. Säulendurchfluss verwerfen und Collection Tube weiterverwenden.

Das Waschen der an die PerfectBind Silikamatrix gebundenen Plasmid-DNA mit PW Plasmid Buffer ermöglicht eine besonders effiziente Entfernung von Proteinkontaminationen und ist besonders für sensitive Folgeexperimente zu empfehlen. Für Standardfolgeanwendungen, wie z. B. Klonierungs-Screenings, kann auf diesen Schritt verzichtet werden.

6. Waschen II

Die PerfectBind DNA Column wieder in das bereits verwendete 2.0 ml Collection Tube stecken und 750 µl des mit 100 % Ethanol komplettierten DNA Wash Buffers auf die PerfectBind DNA Column pipettieren. Für 1 Minute bei 10.000 x g* zentrifugieren. Den Säulendurchfluss verwerfen und das Collection Tube weiterverwenden.

Komplettierter DNA Wash Buffer, der im Kühlschrank aufbewahrt wurde, muss vor seiner Verwendung zunächst auf Raumtemperatur gebracht werden.

* Umrechnung g (rcf) / rpm siehe Appendix, S. 27

7. Waschen III (optional)

Nochmals mit 750 µl DNA Wash Buffer waschen, wie in Schritt 6 beschrieben.

8. Trocknen (Essentieller Schritt! Zeit nicht verkürzen!)

PerfectBind DNA Column in das geleerte 2.0 ml Collection Tube zurückstecken und durch zweiminütiges Zentrifugieren bei 10.000 x g* vollständig trocknen.

9. Elution

Die PerfectBind DNA Column in ein sauberes 1.5 ml Zentrifugenröhrchen stecken und die Plasmid-DNA abhängig von der gewünschten Konzentration mit 50 µl bis 100 µl Elution Buffer oder sterilem Wasser eluieren. Dazu die Lösung direkt auf die Matrix pipettieren und 1 Minute bei 5.000 x g* zentrifugieren.

Zur vollständigen Rückgewinnung der Plasmid-DNA kann eine zweite Elution notwendig sein. Dabei ist zu berücksichtigen, dass zwar der absolute Ertrag verbessert wird, die DNA-Konzentration jedoch sinkt, da bei der ersten Elution bereits mehr als 80 % der gereinigten Plasmid-DNA zurückgewonnen werden. Für die zweite Elution kann auch das erste Eluat verwendet werden. Dadurch wird der Gesamtertrag etwas verbessert, bleibt aber ca. 30 % hinter dem Ertrag zurück, der bei einer Nachelution mit frischem Wasser oder TE-Puffer erreicht werden kann. Statt einer zweiten Elution kann die DNA auch direkt in einem größeren Volumen Wasser oder TE-Puffer eluiert werden.

* Umrechnung g (rcf) / rpm siehe Appendix, S. 27

QUANTIFIZIERUNG DER PLASMID-DNA

Um die Konzentration und Reinheit einer DNA-Lösung zu bestimmen, muss die Absorption eines geeignet verdünnten Aliquots (20- bis 50-fach) bei 260 nm und 280 nm gemessen werden. Eine A_{260} -Einheit entspricht dabei 50 μg DNA/ml. Die Konzentration berechnet sich demnach wie folgt:

$$\text{DNA-Konzentration } (\mu\text{g/ml}) = \text{Absorption}_{260} \times 50 \times \text{Verdünnungsfaktor}$$

Das $A_{260/280}$ -Verhältnis reiner Nukleinsäuren liegt bei 2.0. Das mit dem peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I erzielbare $A_{260/280}$ -Verhältnis von 1.8 bis 2.0 entspricht deshalb DNA einer Reinheit von 90 % bis 100 %. Üblicherweise liegt der größte Teil der isolierten Plasmide in der monomeren supercoiled Form vor.

Alternativ können der ungefähre Ertrag und die Qualität der erhaltenen Plasmid-DNA auch durch Agarosegelelektrophorese mit anschließender Ethidiumbromidfärbung und Vergleich mit bekannten DNA-Proben bestimmt werden.

LAGERUNG DER DNA

Plasmid-DNA, die mit dem peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I aufgereinigt wurde, kann in Elution Buffer, TE-Puffer oder sterilem, deionisiertem Wasser für mehrere Jahre bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt werden.

BESTELLINFORMATIONEN

Für die Isolierung von Plasmid-DNA aus Bakterienkulturen:

peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I (Classic-Line) <i>(bis zu 25 µg Plasmid DNA)</i>	12-6942-00	5 Reinigungen
	12-6942-01	50 Reinigungen
	12-6942-02	200 Reinigungen
peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I (Safety-Line) <i>(bis zu 25 µg Plasmid DNA)</i>	12-6943-00	5 Reinigungen
	12-6943-01	50 Reinigungen
	12-6943-02	200 Reinigungen
peqGOLD Plasmid Miniprep Kit II (Classic-Line) <i>(bis zu 75 µg Plasmid DNA)</i>	12-6945-00	5 Reinigungen
	12-6945-01	50 Reinigungen
	12-6945-02	200 Reinigungen
peqGOLD Plasmid Miniprep Kit II (Safety-Line) <i>(bis zu 75 µg Plasmid DNA)</i>	12-6946-00	5 Reinigungen
	12-6946-01	50 Reinigungen
	12-6946-02	200 Reinigungen
peqGOLD XChange Plasmid Midi Kit <i>(bis zu 100 µg Plasmid DNA)</i>	12-7401-01	10 Reinigungen
	12-7401-02	20 Reinigungen
	12-7401-03	40 Reinigungen
peqGOLD XChange Plasmid Maxi Kit <i>(bis zu 500 µg Plasmid DNA)</i>	12-7402-01	10 Reinigungen
	12-7402-02	20 Reinigungen
	12-7402-03	40 Reinigungen
peqGOLD XChange Plasmid Maxi EF Kit <i>(bis zu 500 µg Plasmid DNA)</i>	12-7404-01	10 Reinigungen
	12-7404-02	20 Reinigungen
peqGOLD XChange Purification Kit <i>(zur Entsalzung)</i>	12-7403-01	20 Reinigungen
	12-7403-02	40 Reinigungen

TROUBLESHOOTING TIPS

Problem	Ursache	Abhilfe
Niedrige DNA-Erträge	Schlechte Zellyse	Nur LB- oder YT-Medium mit adäquater Antibiotikakonzentration verwenden. Maximal 5 ml (HC-Plasmide) bzw. 10 ml (LC-Plasmide) Übernachtskultur verwenden Zellen vor der Zugabe von Solution II durch Vortexen sorgfältiger in Solution I resuspendieren Inkubationszeit mit Solution II verlängern, bis das Lysat völlig klar wird Solution II war nicht immer dicht verschlossen. Durch eine frisch angesetzte Solution (0.1 N NaOH, 1 % SDS) ersetzen
	Bakterienkultur war nicht frisch oder zu lange inkubiert	Bakterienkulturen nicht länger als maximal 16 Stunden bei 37 °C wachsen lassen und keine über längere Zeit gelagerten Kulturen verwenden
	Low Copy-Number Plasmid	Ausgangsvolumen von 5 ml auf 10 ml Übernachtskultur erhöhen
Keine DNA im Eluat	DNA Wash Buffer nicht mit Ethanol verdünnt	DNA Wash Buffer nach Vorschrift mit absolutem Ethanol verdünnen
Kontamination mit hochmolekularer DNA	Zellysat nach der Zugabe von Solution II zu heftig gemischt	Nach Zugabe von Solution II nicht zu heftig schütteln oder vortexen; Invertieren ist völlig ausreichend
Optische Dichte und Ertrag laut Kontrollgel stimmen nicht überein	Spuren von Kontaminationen erhöhen die Absorption	Die optionalen Waschschrte durchführen, wie in den Schritten 5 und 7 angegeben. Im Zweifelsfall ist die Mengenbestimmung mit Agarosegel-/Ethidiumbromidelektrophorese sicherer
RNA-Kontaminationen erkennbar	RNase A nicht zu Solution I gegeben	Solution I nach Vorschrift mit RNase A komplettieren
Plasmid-DNA läuft aus den Geltaschen	PerfectBind DNA Column nach dem Waschen nicht vollständig getrocknet	PerfectBind DNA Column nach dem Waschen trocknen wie in Schritt 8 angegeben

INTRODUCTION

The peqGOLD family of products is an innovative system that radically simplifies extraction and purification of nucleic acids from a variety of sources. Key to the system is the PerfectBind matrix that avidly, but reversibly, binds DNA or RNA under certain optimal conditions allowing proteins and other contaminants to be removed. Nucleic acids are easily eluted with deionized water or low salt buffer.

PerfectBind DNA Columns facilitate the binding, washing and elution steps thus enabling multiple samples to be simultaneously processed. Yields vary according to plasmid copy number, *E.coli* strain and conditions of growth, but 5 ml of overnight culture with high copy-number plasmids in LB medium typically produce 15 to 25 µg plasmid DNA. For more DNA, we recommend the peqGOLD Plasmid Miniprep Kit II that yields 40 to 75 µg DNA from 10 to 15 ml culture when using high copy-number plasmids.

Plasmid-DNA isolated with the peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I is suitable for automated fluorescent DNA sequencing, restriction endonuclease digestion and other applications.

peqGOLD Plasmid Mini Kits I are available with Safety-Line or Classic-Line columns (Safety-Line, Ordering No. 12-6943-xx; Classic-Line, Ordering No. 12-6942-xx). Safety-Line columns can be closed tightly by lids to avoid cross-contamination more effectively. Classic-Line columns do not have lids for a more comfortable handling.

PRINCIPLE

The Plasmid Miniprep Kits combine the power of PerfectBind technology with the time-tested consistency of alkaline-SDS lysis of bacterial cells to deliver high quality DNA. Plasmid DNA binds effectively to the silica membrane of the PerfectBind DNA Column and can easily be purified from contaminants and enzyme inhibitors. Purified plasmid DNA is simply eluted from the column with Elution Buffer or water.

KIT COMPONENTS

peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I	5 Purifications	50 Purifications	200 Purifications
Order No. Classic-Line	12-6942-00	12-6942-01	12-6942-02
Order No. Safety-Line	12-6943-00	12-6943-01	12-6943-02
Components			
PerfectBind DNA Columns	5	50	200
2.0 ml Collection Tubes	5	50	200
Solution I	5 ml	20 ml	60 ml
Solution II	5 ml	20 ml	60 ml
Solution III	5 ml	20 ml	80 ml
PW Plasmid Buffer	5 ml	30 ml	110 ml
DNA Wash Buffer (conc.)	12 ml	40 ml	3 x 40 ml
RNase A	25 µl	70 µl	200 µl
Elution Buffer (5 mM Tris-HCl, pH 8.5)	1.5 ml	15 ml	60 ml
Instruction manual	1	1	1

STORAGE AND STABILITY

All peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I components are stable for at least 12 months from the date of purchase. RNase A and solution I completed with RNase should be stored at 4 °C, all other components should be stored at room temperature (22 °C – 25 °C).

BEFORE STARTING

Briefly examine this booklet and become familiar with each step. Prepare all components and have the necessary materials ready before starting.








- ! Before using, Solution I must be completed with RNase A. Add the complete volume of RNase A to the bottle of Solution I and mix carefully. Store the completed Solution I at 4 °C.
- ! Solution II should be closed firmly when not used.
- ! DNA Wash Buffer is concentrated and has to be completed with absolute ethanol as follows:

12-6942-00	Mix 12 ml DNA Wash Buffer with 18 ml 100 % EtOH.
12-6943-00	
12-6942-01	Mix 40 ml DNA Wash Buffer with 60 ml 100 % EtOH.
12-6943-01	
12-6942-02	Mix 3 x 40 ml DNA Wash Buffer with 3 x 60 ml 100 % EtOH.
12-6943-02	

- ! Store diluted DNA Wash Buffer at room temperature.
- ! All steps must be carried out at room temperature.

DANGEROUS COMPONENTS

peqGOLD Plasmid Miniprep I Kit

Components	Signal word / symbols	Dangerous components	H and P statements
PerfectBind DNA Columns	-	-	-
2.0 ml Collection Tubes	-	-	-
Solution I	-	-	-
Solution II	DANGER 	sodium dodecyl sulphate 1-≤2.5%, sodium hydroxide 0.5- <1%, CAS: 151-21-3, 1310-73-2	H314, P101, P102, P103, P260, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P405, P501
Solution III	DANGER  	guanidinium chloride 25-50%, acetic acid 10- <25%, CAS: 50-01-1, 64-19-7	H302, H315, H318, P101, P102, P103, P280, P264, P305+P351+P338, P362, P403+P233, P501
PW Plasmid Buffer	DANGER  	guanidinium chloride 25-50%, propan-2-ol 25-50%, CAS: 50-01-1, 67-63-0	H225, H302, H315, H319, H336, P101, P102, P103, P210, P261, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P405, P501
DNA Wash Buffer (Konz.)	-	-	-
RNase A	DANGER  	Nuclease, ribo- 20 mg/ml, CAS: 9001-99-4	H317, H334, P261S, P280sh, P302+P352, P304+P340, P333+P313, P342+P311, P363
Elution Buffer (5 mM Tris-HCl, pH 8.5)	-	-	-

H and P statements	Descriptions
H225	Highly flammable liquid and vapour.
H302	Harmful if swallowed.
H314	Causes severe skin burns and eye damage.
H315	Causes skin irritation.
H317	May cause an allergic skin reaction.
H318	Causes serious eye damage.
H319	Causes serious eye irritation.
H334	May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled.
H336	May cause drowsiness or dizziness.
P101	If medical advice is needed, have product container or label at hand.
P102	Keep out of reach of children.
P103	Read label before use.
P210	Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
P260	Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapours/spray.
P261	Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray.
P261S	Avoid breathing dust.
P264	Wash ... thoroughly after handling.
P280	Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P280sh	Wear protective gloves/eye protection.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of water/...
P303+P361+P353	IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower.
P304+P340	IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P342+P311	If experiencing respiratory symptoms: Call a POISON CENTER/doctor/...
P362	Take off contaminated clothing.
P363	Wash contaminated clothing before reuse.
P403+P233	Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed.
P405	Store locked up.
P501	Dispose of contents/container to ...

PEQGOLD PLASMID MINIPREP KIT I PROTOCOL

Materials required, to be supplied by the user:

- ! Appropriate Bacterial Growth Medium
- ! 100 % Ethanol
- ! Sterile deionized water (optional)
- ! Sterile pipet tips and centrifuge tubes

A. High Copy-Number Plasmids

1. Bacterial Culture

Inoculate 5 ml growth medium containing the appropriate antibiotic in a 10 - 20 ml culture tube with *E.coli* carrying the desired plasmid and grow at 37 °C with shaking for 12 to 16 h.

Pellet overnight culture by centrifugation for 1 min at 10.000 x g* in a 1.5 ml centrifuge tube or 10 min at 5.000 x g* in a 15 ml centrifuge tube. Pour off supernatant and discard.

For High-Copy Number Plasmids, do not use more than 5 ml overnight culture, otherwise the column may become overloaded. If bigger volumes have to be processed, we recommend processing of multiple samples from the same culture. Alternatively, work with the peqGOLD Plasmid Miniprep Kit II (product no. 12-6946 / 12-6945), that allows processing of 10 - 15 ml culture using the mini-column format and generally yields 40 - 75 µg plasmid DNA.

2. Lysis of Bacteria

Add 250 µl Solution I/RNase A to the bacterial pellet and completely resuspend cells by vortexing.

Complete resuspension of cell pellet is essential for obtaining high yields.

Add 250 µl Solution II and gently mix by inverting and rotating tube 6 - 10 times to obtain a cleared lysate. A 2 min incubation at room temperature may be necessary.

Avoid vigorous mixing as this will shear chromosomal DNA and lower plasmid purity. Store Solution II tightly capped when not in use.

* Translation of g (rcf) / rpm see Appendix, page 27

3. Neutralisation of Lysate

Add 350 μ l Solution III to the cleared lysate and gently mix by inverting the tube 6 - 10 times until a flocculent white precipitate is formed. Centrifuge at 10.000 x g* for 10 minutes at room temperature.

4. Load and Bind

Transfer the clear supernatant to a fresh PerfectBind DNA Column in a 2.0 ml Collection Tube. Ensure that the pellet is not disturbed and that no cellular debris are carried over into the column. Centrifuge the column / collection tube assembly for 1 min at 10.000 x g* at room temperature to completely pass lysate through the membrane. Discard the flow-through liquid and keep the Collection Tube for further steps.

5. Wash I (optional)

Place the PerfectBind DNA Column in the 2.0 ml Collection Tube and add 500 μ l PW Plasmid Buffer. Centrifuge for 1 min at 10.000 x g*. Discard flow-through liquid and keep the Collection Tube for further steps.

This wash step with PW Plasmid Buffer leads to an efficient removal of protein contamination and is recommended for sensitive downstream experiments. For standard applications, like cloning screening, you may skip this step.

6. Wash II

Place the PerfectBind DNA Column in the 2.0 ml Collection Tube and add 750 μ l of DNA Wash Buffer completed with ethanol. Centrifuge for 1 min at 10.000 x g*, discard the flow-through and keep the Collection Tube for further steps.

Supplied DNA Wash Buffer must be diluted with absolute ethanol before use. If refrigerated, DNA Wash Buffer must be brought to room temperature before use.

7. Wash III (optional)

Repeat wash step with another 750 μ l DNA Wash Buffer, as described in step 6.

8. Dry (Important! Do not skip this step!)

Place the PerfectBind DNA Column containing your plasmids in the 2.0 ml Collection Tube and centrifuge for 2 min at 10.000 x g* to dry the column matrix. This step is essential to remove ethanol from the column.

* Translation of g (rcf) / rpm see Appendix, page 27

9. Elution

Place the PerfectBind DNA Column into a fresh 1.5 ml microcentrifuge tube. Add 50 - 100 μ l (depending on the desired concentration of final product) Elution Buffer or sterile deionized water directly to the binding matrix in the PerfectBind DNA Column and centrifuge for 1 min at 5.000 x g* to elute DNA.

The first elution represents approximately 75 – 80 % of the bound DNA. An optional second elution will yield any residual DNA, though at a lower concentration.

Discard the PerfectBind DNA Column and store the eluted plasmid DNA at +4 °C or at -20 °C.

* Translation of g (rcf) / rpm see Appendix, page 27

B. Low Copy-Number Plasmids

1. Bacterial Culture

Inoculate 10 ml growth medium containing the appropriate antibiotic in a 20 - 50 ml culture tube with *E.coli* carrying the desired plasmid and grow at 37 °C with shaking for 12 to 16 h.

Pellet 5 or 10 ml overnight culture by centrifugation for 1 min at 10.000 x g* in several 1.5 ml centrifuge tubes or for 10 min at 5.000 x g* in one 15 ml centrifuge tube. Pour off supernatant and discard.

For Low-Copy Number Plasmids, do not use more than 10 ml overnight culture, otherwise the column may become overloaded. If bigger volumes have to be processed we recommend processing of multiple samples from the same culture. Alternatively, work with the peqGOLD Plasmid Miniprep Kit II (product No. 12-6946 / 12-6945), that allows processing of 25 - 100 ml cultures using the mini-column format and generally yields 20 - 70 µg plasmid DNA.

2. Lysis of Bacteria

Add 250 µl (for 5 ml overnight culture) or 500 µl (for 10 ml overnight culture) Solution I/RNase A to the bacterial pellet, close the tube and completely resuspend cells by vortexing.

Complete resuspension of cell pellet is essential for obtaining high yields.

Add 250 µl (for 5 ml overnight culture) or 500 µl (for 10 ml overnight culture) Solution II and gently mix by inverting and rotating tube 6 - 10 times to obtain a cleared lysate. A 2 min incubation at room temperature may be necessary.

Avoid vigorous mixing as this will shear chromosomal DNA and lower plasmid purity. Store Solution II tightly capped when not in use.

3. Neutralisation of Lysate

Add 350 µl (for 5 ml overnight culture) or 700 µl (for 10 ml overnight culture) Solution III to the cleared lysate and gently mix by inverting the tube 6 - 10 times until a flocculent white precipitate forms. Centrifuge at 10.000 x g* for 10 minutes at room temperature.

4. Load and Bind

Transfer the clear supernatant to a fresh PerfectBind DNA Column in a 2.0 ml Collection Tube. Ensure that the pellet is not disturbed and that no cellular debris are carried over into the column. Centrifuge the column / Collection Tube assembly for 1 min at 10.000 x g* at room temperature to completely pass lysate through the membrane. Discard the flow-through liquid and keep the Collection Tube for further steps.

** Translation of g (rcf) / rpm see Appendix, page 27*

5. Wash I (optional)

Place the PerfectBind DNA Column in the 2.0 ml Collection Tube and add 500 μ l PW Plasmid Buffer. Centrifuge for 1 min at 10.000 x g*. Discard the flow-through liquid and keep the Collection Tube for further steps.

This wash step with PW Plasmid Buffer leads to an efficient removal of protein contamination and is recommended for sensitive downstream experiments. For standard applications, like cloning screening, you may skip this step.

6. Wash II

Place the PerfectBind DNA Column in the 2.0 ml Collection Tube and add 750 μ l of DNA Wash Buffer diluted with ethanol. Centrifuge for 1 min at 10.000 x g*, discard the flow-through and keep the Collection Tube for further steps.

Supplied DNA Wash Buffer must be diluted with absolute ethanol before use. If refrigerated, DNA Wash Buffer must be brought to room temperature before use.

7. Wash III (optional)

Repeat wash step with another 750 μ l DNA Wash Buffer, as described in step 6.

8. Dry (Important! Do not skip this step!)

Place the PerfectBind DNA Column containing your plasmids in the 2.0 ml Collection Tube and centrifuge for 2 min at 10.000 x g* to dry the column matrix. This step is essential to remove ethanol from the column.

* Translation of g (rcf) / rpm see Appendix, page 27

9. Elution

Place the PerfectBind DNA Column into a fresh 1.5 ml microcentrifuge tube. Add 50 - 100 μ l (depending on the desired concentration of final product) Elution Buffer or sterile deionized water directly to the binding matrix in the PerfectBind DNA Column and centrifuge for 1 min at 5.000 x g* to elute DNA.

The first elution represents approximately 75 – 80 % of the bound DNA. An optional second elution will yield any residual DNA, though at a lower concentration.

Discard the PerfectBind DNA Column and store the eluted plasmid DNA at +4 °C or at –20 °C.

YIELD AND QUALITY OF DNA

Determine the absorption of an appropriate dilution (20- to 50-fold) of the sample at 260 nm and 280 nm. One A_{260} unit corresponds to 50 μ g DNA/ml. The DNA concentration is calculated as follows:

$$\text{DNA conc. } (\mu\text{g/ml}) = \text{Absorption}_{260} \times 50 \times \text{Dilution Factor}$$

High copy number plasmids generally yield up to 25 μ g of DNA from 5 ml culture. The ratio of $A_{260/280}$ is an indicator for nucleic acid purity. A value higher than 1.8 indicates > 90 % purity. Typically, the majority of the eluted DNA is in monomeric supercoiled form.

Alternatively, quantity (as well as quality) can be determined by agarose gel/ethidium bromide electrophoresis by comparison to DNA samples of known concentration.

STORAGE OF DNA

DNA purified by peqGOLD Mini Prep Kits can be stored in Elution Buffer, TE Buffer or sterile, deionized water at –20 °C for years.

* Translation of g (rcf) / rpm see Appendix, page 27

ORDERING INFORMATION

For the isolation of plasmid DNA from bacterial culture:

peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I (Classic-Line) <i>(up to 25 µg plasmid DNA)</i>	12-6942-00	5 Preparations
	12-6942-01	50 Preparations
	12-6942-02	200 Preparations
peqGOLD Plasmid Miniprep Kit I (Safety-Line) <i>(up to 25 µg plasmid DNA)</i>	12-6943-00	5 Preparations
	12-6943-01	50 Preparations
	12-6943-02	200 Preparations
peqGOLD Plasmid Miniprep Kit II (Classic-Line) <i>(up to 75 µg plasmid DNA)</i>	12-6945-00	5 Preparations
	12-6945-01	50 Preparations
	12-6945-02	200 Preparations
peqGOLD Plasmid Miniprep Kit II (Safety-Line) <i>(up to 75 µg plasmid DNA)</i>	12-6946-00	5 Preparations
	12-6946-01	50 Preparations
	12-6946-02	200 Preparations
peqGOLD XChange Plasmid Midi Kit <i>(up to 100 µg plasmid DNA)</i>	12-7401-01	10 Preparations
	12-7401-02	20 Preparations
	12-7401-03	40 Preparations
peqGOLD XChange Plasmid Maxi Kit <i>(up to 500 µg plasmid DNA)</i>	12-7402-01	10 Preparations
	12-7402-02	20 Preparations
	12-7402-03	40 Preparations
peqGOLD XChange Plasmid Maxi EF Kit <i>(up to 500 µg plasmid DNA)</i>	12-7404-01	10 Preparations
	12-7404-02	20 Preparations
peqGOLD XChange Purification Kit <i>(for desalination)</i>	12-7403-01	20 Preparations
	12-7403-02	40 Preparations

TROUBLESHOOTING TIPS

Problem	Likely cause	Suggestion
Low DNA yields	Poor cell lysis	<p>Only use LB or YT medium containing appropriate antibiotics</p> <p>Do not use more than 5 ml (HC plasmids) or 10 ml (LC plasmids) culture with the basic protocol</p> <p>Cells may not be suspended good enough prior to addition of Solution II. Vortex thoroughly to completely resuspend the cells</p> <p>Increase incubation time with Solution II to obtain a clear lysate</p> <p>Solution II, if not tightly closed, may need to be replaced. Prepare as follows: 0.1 N NaOH, 1 % SDS</p>
	Bacterial culture overgrown or not fresh	Do not incubate cultures for more than 16 hours at 37 °C and don't use stored cultures
	Low copy-number plasmid used	Such plasmids may yield as little as 0.5 µg DNA from a 5 ml overnight culture. Increase overnight culture volume to 10 ml
No DNA eluted	DNA Wash Buffer Concentrate not diluted with absolute ethanol	Complete DNA Wash Buffer with 100 % ethanol as instructed above
High molecular weight DNA contamination of product	Too strong mixing of cell lysate upon addition of Solution II	Do not vortex or mix aggressively after adding Solution II. Adequate mixing is obtained by simply inverting and rotating tube
Optical densities do not agree with DNA yield estimated by agarose gel-electrophoresis	Trace contaminants eluted from column increase A_{260}	Make sure to wash column as instructed in steps 5 and 7. Alternatively, rely on agarose gel/ethidium bromide electrophoresis for quantitation
RNA visible on agarose gel	RNase A not added to Solution I	Add RNase A to Solution I before use
Plasmid DNA floats out of well while loading agarose gel	Ethanol not completely removed from column following wash steps	Centrifuge column as instructed in step 8 to dry completely

APPENDIX

Speed (g/RCF)	Rotor Radius (center of rotor to sample) [cm]														
	5	6	7	8	8.4	9	10	11	12	13	14	15			
1000	4230	3861	3575	3344	3263	3153	2991	2852	2730	2623	2528	2442			
1500	5180	4729	4378	4095	3997	3861	3663	3492	3344	3213	3096	2991			
2000	5961	5460	5055	4729	4615	4458	4230	4033	3861	3710	3575	3453			
2500	6688	6105	5652	5287	5160	4985	4729	4509	4317	4147	3997	3861			
3000	7326	6688	6191	5792	5652	5460	5180	4939	4729	4543	4378	4230			
3500	7913	7223	6688	6256	6105	5898	5595	5335	5106	4907	4729	4568			
4000	8459	7722	7149	6688	6526	6305	5981	5703	5460	5246	5055	4884			
4500	8972	8190	7583	7093	6922	6688	6344	6049	5792	5564	5362	5180			
5000	9458	8634	7993	7477	7297	7049	6688	6376	6105	5865	5652	5460			
5500	9919	9055	8383	7842	7653	7393	7014	6688	6403	6152	5928	5727			
6000	10360	9458	8756	8190	7993	7722	7326	6985	6688	6425	6191	5981			
6500	10783	9844	9114	8525	8319	8037	7625	7270	6961	6688	6444	6226			
7000	11190	10215	9458	8847	8634	8341	7913	7545	7223	6940	6688	6461			
7500	11583	10574	9790	9157	8937	8634	8190	7809	7477	7184	6922	6688			
8000	11963	10921	10111	9458	9230	8917	8459	8065	7722	7419	7149	6907			
8500	12331	11257	10422	9749	9514	9191	8719	8314	7960	7647	7369	7119			
9000	12689	11583	10724	10031	9790	9458	8972	8555	8190	7869	7583	7326			
9500	13036	11901	11018	10306	10058	9717	9218	8789	8415	8085	7791	7527			
10000	13375	12210	11304	10574	10319	9969	9458	9017	8634	8295	7993	7722			
10500	13705	12511	11583	10835	10574	10215	9691	9240	8847	8500	8190	7913			
11000	14028	12806	11856	11090	10823	10456	9919	9458	9055	8700	8383	8099			
11500	14343	13093	12122	11339	11066	10691	10142	9670	9258	8895	8572	8281			
12000	14652	13375	12363	11563	11304	10921	10360	9876	9458	9067	8756	8459			
13000	15250	13921	12888	12056	11766	11367	10783	10281	9844	9458	9114	8805			
13500	15540	14186	13134	12286	11990	11583	10989	10477	10031	9638	9267	8972			
14000	15826	14447	13375	12511	12210	11796	11190	10670	10215	9815	9458	9137			

PerfectedSpin

Abb. 1: Umrechnungstabelle rcf/rpm. Werte für Zentrifugen, abhängig vom Rotordurchmesser.

Fig. 1: Table rcf/rpm. Values for centrifuges depending on rotor diameter.

Life Science Competence Center Erlangen

VWR International GmbH | Carl-Thiersch-Str. 2b | D - 91052 Erlangen | Freecall: 0800 100 2016 | Fax: +49 9131 610 70 - 99
E-Mail: info.peqlab@de.vwr.com | Internet: www.peqlab.de

VWR International GmbH

Hilpertstraße 20a | D - 64295 Darmstadt | Freecall: 0800 702 00 07 | Fax: 0180 570 22 22 (0,14 €/Min. aus d. dt. Festnetz)
Email: info@de.vwr.com | Internet: <http://de.vwr.com>