

Recept amplifikációhoz

Ez az eljárás akár több, mint 2 mg plazmid/ liter tenyészet plazmidmennyiséget is eredményezhet.

37 °C-on, a plazmidon kódolt rezisztenciával azonos antibiotikumot tartalmazó LB tápoldatban tenyésztett E. colit egy éjszakán át történt szaporítás után friss LB tápoldatba oltjuk és intenzíven rázatjuk. Ha a tenyészet elérte a késői logaritmikus szaporodási fázist, újabb léptéknövelt átvétel után 2,5 órás tenyésztés után annyi alkoholos kloramfenikol oldatot teszünk a tenyészethez, hogy a végkoncentráció 170 ug/ml legyen. 12-16 órás intenzív rázatással kísért inkubálás után a tenyészetből a sejteket centrifugálással kinyerjük, mossuk, majd szétroncsoljuk. A sejtek lízisét lúgos forralással, és/vagy lizozimos kezeléssel végezzük. A tiszta plazmidot többlépéses tisztítás és/vagy gradiens ultracentrifugálással kapjuk meg.