

MN NucleoBond Xtra 系列常見問題

1. 為什麼抽到的 plasmid 量不如預期??

由於 plasmid 量不如預期的原因非常多，以下為客戶常見的問題

- a. 請勿直接挑 single colony 至 >40ml 的 medium 進行培養
如果直接挑 single colony 至 >40ml 的 medium 中，常常會造成菌體過老而抽不到足夠量的 plasmid DNA，建議客戶先將 single colony 放入 <5ml 的 medium 中先培養 6~8hr，再取 1/1000 體積的菌液至新鮮的 medium 中培養 14~16hr (ex: 100ul cultured E.coli + 100ml LB medium)，這樣的狀態下得到 E.coli 菌體生產情況較好，得到的 plasmid 產量會較高。
- b. 操作前一定要測菌體的 OD600 吸光值，確保 E.coli lysis 效果
MN 建議 high copy 的 ODV=400, low copy 的 ODV=800 (ODV=OD600 x Volume)，舉例來說，如果 OD600=2 的情況下，high copy 菌液量不可超過 200ml，low copy 菌液量不可超過 400ml。如果菌量超過 MN 的建議，造成 E.coli lysis 不完全，E.coli lysate 會堵住上方的 filter，使得最後的 plasmid 產量驟減。
- c. 在 NucleoBond Xtra EF 包裝中有一瓶標示為 70% EtOH，**這瓶必須請客戶自行加入 100%酒精**，如果忘了加入 EtOH，所有的 plasmid DNA 會在 wash 步驟中被洗掉。
- d. 如果客戶使用 Finalizer 進行 plasmid 純化，原廠建議是空壓 3 次以上將 Finalizer 乾燥，實驗室測試時空壓 6 次乾燥，如果 finalizer 不夠乾，殘留的 EtOH 會影響後續的 elute 效果。
建議客戶可以觀察 Finalizer 的尖端處，第一次空壓時會有 EtOH 附著在尖端處，經過幾次空壓後 EtOH 會揮發，當尖端乾燥時內部的 membrane 也會乾燥。

2. NucleoBond Xtra buffer 不夠用了，該怎麼辦??

建議客戶另外購買 buffer set

NucleoBond Xtra buffer set I (#740417) for NucleoBond Xtra，內含 RES、LYS、NEU 各 150ml，RNase A 10mg

NucleoBond Xtra EF buffer set I (#740427) for NucleoBond Xtra EF，內含 RES-EF、LYS-EF、RES-EF 各 150ml，RNase A 10mg。

3. NucleoBond Xtra 與 NucleoBond Xtra EF 的差異為何??

NucleoBond Xtra 與 NucleoBond Xtra EF 所使用的 column 不同，NucleoBond Xtra 的 endotoxin 殘留量為 <1EU/ug，NucleoBond Xtra EF 的 endotoxin 殘留量為 <0.05EU/ug。

由於這兩組 kit 使用的 column 不同，因此包裝內的 buffer 配方也不同，絕對不可以混用。