

Набор Plasmid Miniprep

Кат.# BC021

Версия 02 от 20 июля 2018 г.

Набор предназначен для быстрого выделения плазмидной ДНК высокой степени очистки из культуры клеток *E.coli*. Выделение ДНК основано на применении микроцентрифужных колонок с сорбционными стекловолкнистыми мембранами.

Выход плазмидной ДНК зависит от количества копий плазмиды и использованной для культивирования *E.coli* среды.

Основные свойства

- Емкость колонки до 20 мкг плазмидной ДНК;
- Общее время выделения около 20 мин;
- Очищенная ДНК пригодна для всех молекулярно-биологических процедур (ПЦР, секвенирование, рестрикция, трансформация, трансфекция и др.).

Состав набора

Компоненты набора	Объем, количество
Спин-колонок	50 шт.
Собираемые пробирки (2 мл, без крышки)	50 шт.
РНКаза А (лиофилизированная)	1.5 мг
Ресуспенсирующий раствор	14 мл
Лизирующий раствор	14 мл
Нейтрализующий раствор	19 мл
Промывочный раствор (концентрат)	9 мл
Элюирующий раствор (5 mM Tris HCl pH 7.5)	2 x 1.5 мл
Раствор для удаления эндотоксинов	11 мл

Транспортировка: при комнатной температуре.

Хранение: при комнатной температуре до первого использования; «Ресуспенсирующий раствор» после добавления «РНКаза А» хранить при +4 °С; остальные компоненты – при комнатной температуре.

Срок хранения: при соблюдении условий хранения и транспортировки 1 год после поставки.

Необходимые материалы

- Микроцентрифужные пробирки (1.5-2 мл) для сбора элюата;
- Этиловый спирт (96%).

Подготовка растворов

- Добавьте 31 мл этилового спирта (96%) во флакон с концентрированным «Промывочным раствором». Рекомендуется нанести пометку о выполнении операции на крышку флакона.
- Добавьте к лиофилизированной «РНКазе А» небольшой объем (примерно 1 мл) «Ресуспенсирующего раствора». Перенесите полученный раствор «РНказы А» во флакон с «Ресуспенсирующим раствором».

Протокол выделения плазмидной ДНК

ВНИМАНИЕ! ВСЕ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ ПРОВОДЯТ В НАСТОЛЬНОЙ ЦЕНТРИФУГЕ

1. Перенесите 1-2 мл бактериальной культуры в микроцентрифужные пробирки, осадите клетки центрифугированием в течение 1 минуты на скорости не более 1700 g. Полностью удалите супернатант.
2. Добавьте 250 мкл «Ресуспенсирующего раствора» к осадку и тщательно ресуспенсируйте.
3. Добавьте 250 мкл «Лизирующего раствора». Осторожно перемешайте содержимое пробирки, переворачивая пробирку до тех пор, пока лизат не станет прозрачным. Инкубируйте не более 1 минуты.
 - ▶ *Не используйте вортекс: быстрое перемешивание приводит к разрыву бактериальной хромосомы и загрязнению препарата плазмиды геномной ДНК.*
4. Добавьте 250 мкл «Нейтрализующего раствора», перемешайте содержимое, переворачивая пробирку до образования творожистой взвеси. Инкубируйте 1 минуту.
 - ▶ *Не используйте вортекс.*
5. Центрифугируйте пробирку в течение 10 минут на максимальной скорости.

ДАЛЕЕ ВСЕ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ ПРОВОДЯТСЯ НА СКОРОСТИ ДО 7 000 g (10 000 об/мин для настольной центрифуги Eppendorf MiniSpin).

Для расчета об/мин воспользуйтесь формулой:
$$RPM = \sqrt{\frac{RCF \times 10^5}{1.118 \times r}}$$
 где RPM – частота вращения в оборотах в минуту, RCF – относительное ускорение центрифуги (g), r – радиус ротора в см.

6. Поместите спин-колонку в собирательную пробирку.
7. Нанесите 20 мкл «Раствора для удаления эндотоксинов» на фильтр колонки. Эта процедура улучшает связывание ДНК с носителем.
8. Перенесите осветленный супернатант в микроколонку. Центрифугируйте колонку 30 с.
9. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.
10. **Опция:** Добавьте 200 мкл «Раствора для удаления эндотоксинов» в колонку. Центрифугируйте колонку 30 с. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.
 - ▶ *Выполнение этой процедуры рекомендуется, если планируется использование плазмидной ДНК для трансфекции или трансформации.*
11. Добавьте 700 мкл «Промывочного раствора» в колонку. Центрифугируйте колонку 30 с. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.
12. Центрифугируйте пустую колонку 1 мин для полного удаления «Промывочного раствора».
13. Поместите колонку в новую пробирку (1.5-2 мл).
14. Оставьте при комнатной температуре на 5 мин для испарения остатка спирта.
15. Нанесите в центр мембраны 50 мкл «Элюирующего раствора». Инкубируйте пробирку 1 мин при комнатной температуре. Центрифугируйте колонку 30 с для сбора очищенной ДНК.

**Очищенная ДНК пригодна для любых генно-инженерных приложений.
Хранить при -20 °С.**

Продукты и услуги компании Евроген

P – продукты

S – услуги

Молекулярная биология

Наборы для выделения и очистки нуклеиновых кислот **P**

Маркеры длин ДНК **P**

Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ **P**

Приготовление библиотек кДНК **P S**

Синтез кДНК и RACE **P S**

Клонирование ДНК **P S**

Нормализация кДНК **P S**

Практикум по генной инженерии **P**

Синтез олигонуклеотидов и зондов **S**

Секвенирование по Сэнгеру **S**

Секвенирование следующего поколения (NGS) **S**

Синтез генов **S**

Сайт-направленный мутагенез **S**

Техническая поддержка: customer-support@evrogen.ru

Клеточная биология

Выявление микоплазменной контаминации **P**

Флуоресцентные белки **P**

Генетически-кодируемые сенсоры и фотосенсибилизаторы **P**

Антитела против флуоресцентных белков **P**

Временная трансфекция клеточных линий **S**

Конструирование и сборка лентивирусных частиц **S**

Создание стабильно трансфицированных клеточных линий **S**

Техническая поддержка: customer-support@evrogen.ru

Молекулярно-генетические исследования

Исследования в области молекулярной онкологии
и генетики наследственных заболеваний **S**

Техническая поддержка: md-support@evrogen.ru

Подробную информацию о наших продуктах и сервисах можно получить на сайте www.evrogen.ru

ЗАО Евроген

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10, корпус

70 (Технопарк ИБХ)

Тел.: +7 (495) 988-4083

Факс: +7 (495) 988-4085

www.evrogen.ru