

Набор Plasmid Miniprep

Кат.# BC021

Набор предназначен для быстрого выделения высокоочищенной плазмидной ДНК 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 30 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	Кол-во
Спин-колонки	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	2x1.5 мл
Раствор для удаления эндотоксинов	11 мл

Транспортировка: при комнатной температуре;

Хранение: «Ресуспенсирующий раствор» после добавления РНКаза А хранить при +4°C; остальные компоненты - при комнатной температуре.

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

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

Все центрифугирования проводят в настольной центрифуге.

1. Перенесите 1-2 мл бактериальной культуры в 2-х мл микроцентрифужные пробирки, осадите клетки центрифугированием в течение 1 минуты (5000-7000g). Полностью удалите супернатант.

Далее все центрифугирования проводят на максимальной скорости (10000-13000g).

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 350 мкл «Нейтрализующего раствора», перемешайте содержимое, переворачивая пробирку до образования творожистой взвеси. Инкубируйте 1 минуту.
 - ▶ *Не используйте вортекс.*
5. Центрифугируйте пробирку в течение 10 мин.
6. Поместите спин-колонку в собирательную пробирку. Перенесите осветленный супернатант в микроколонку. Центрифугируйте колонку 30 секунд.
 - ▶ *В процессе центрифугирования плазмидная ДНК сорбируется на силиконовом носителе колонки.*

7. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.
8. **Опция:** Добавьте 200 мкл «Раствора для удаления эндотоксинов» в колонку. Центрифугируйте колонку 30 сек. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.
 - ▶ *Выполнение этой процедуры рекомендуется, если планируется использование плазмидной ДНК для трансфекции или трансформации.*
9. Добавьте 300 мкл «Промывочного раствора» в колонку. Центрифугируйте колонку 30 сек. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.
10. Повторите стадию 9 протокола.
11. Центрифугируйте пустую колонку 60 сек для полного удаления «Промывочного раствора».
12. Поместите колонку в новую пробирку (1.5 – 2 мл).
13. Нанесите в центр мембраны 30-50 мкл «Элюирующего раствора». Инкубируйте пробирку 60 сек при комнатной температуре. Центрифугируйте колонку 30 сек для сбора очищенной ДНК.

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

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