

Набор Plasmid Miniprep

Кат.# BC021

Версия 02 от 15 декабря 2017 г.

Набор предназначен для быстрого выделения высокоочищенной плазмидной ДНК из культуры клеток *E.coli*.

Выделение ДНК основано на применении микроцентрифужных колонок с сорбционными стекловолокнистыми 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 (5 mM Tris HCl pH 7.5)	2 x 1.5 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». Перенесте 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.

Продукты и услуги компании Евроген

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 геной 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

P»»» – ссылка на страницу ПРОДУКТА

S»»» – ссылка на страницу УСЛУГИ

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: oncology@evrogen.ru

Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, корп. 70 (Технопарк ИБХ)
Тел.: +7 (495) 988-4083
Факс: +7 (495) 988-4085
www.evrogen.ru
order@evrogen.ru