

## Набор Cleanup Standard

Кат.# BC022

Набор предназначен для очистки фрагментов двухцепочечной ДНК (70-10000 п.о.) из агарозных гелей и реакционных смесей (ПЦР, рестрикция, лигирование и т.д.).

Специально подобранный «Связывающий раствор» обеспечивает условия, при которых на фильтре колонки сорбируется только двухцепочечная ДНК, тогда как одноцепочечная ДНК, РНК, соли, ферменты, нуклеотиды и другие вещества остаются в растворе.

На колонке может быть обработано до 200 мг геля; рекомендуемое количество – до 150 мг.

### Основные свойства

- Емкость колонки: до 25 мкг ДНК
- Размер ДНК: 70-10000 п.о.
- ДНК может быть выделена из всех типов агарозы и любых ферментативных реакционных смесей
- Концентрация геля может достигать 2-3%
- Нет стадий переосаждения ДНК изопропанолом или этанолом и хлороформ-фенольной экстракции
- Нет необходимости в удалении минерального масла (при очистке ПЦР-продукта)
- Общее время выделения менее 10 мин

## Состав набора

Компоненты набора	Кол-во
Спин-колонки	50 шт
Собираательные пробирки (2 мл, без крышки)	50 шт
Связывающий раствор	30 мл
Промывочный раствор (концентрат)	9 мл
Элюирующий раствор	2x1.5 мл

**Хранение и транспортировка:** 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%)
- Изопропанол (в случае очистки фрагментов менее 500 п.о. или более 4000 п.о.)

## Подготовка растворов

- Добавить 31 мл этилового спирта (96%) во флакон с концентрированным «Промывочным раствором». Рекомендуется нанести пометку о выполнении операции на крышку флакона.

## Протокол выделения ДНК

### I. Пробоподготовка

Экстракция ДНК из агарозного геля описана в подразделе «а», экстракция из реакционной смеси описана в подразделе «б».

#### а) Экстракция ДНК из агарозного геля

1. Вырезать фрагмент геля с целевой ДНК и взвесить (на одну колонку не более 200 мг геля).
2. Добавить 3 объема «Связывающего раствора» к 1 объему геля. Объем геля в мкл численно приравнивается к его массе в мг (100 мг геля  $\approx$  100 мкл).
3. Инкубировать смесь при 50-55°C до полного растворения геля. Для ускорения растворения, рекомендуется перемешивать раствор встряхиванием пробирки.
4. **Опция:** для фрагментов менее 500 п.о. и более 4000 п.о.

добавить 1 объём изопропанола на 1 объём геля, смесь перемешать.

- ▶ *Для очистки фрагментов менее 150 п.о. добавление изопропанола обязательно.*

5. Перейти к пункту «II. Выделение ДНК на колонке».

#### б) Экстракция ДНК из реакционных смесей

1. Добавить 5 объемов «Связывающего раствора» к 1 объему реакционной смеси, перемешать раствор.
2. **Опция:** для фрагментов менее 500 п.о. и более 4000 п.о. добавить 2.5 объёма изопропанола на 1 объём реакционной смеси, смесь перемешать.
  - ▶ *Для очистки фрагментов менее 150 п.о. добавление изопропанола обязательно.*
3. Перейти к пункту «II. Выделение ДНК на колонке».

## II. Выделение ДНК на колонке

Все центрифугирования проводят на максимальной скорости (10000-13000g) в настольной центрифуге.

1. Поместить спин-колонку в собирательную пробирку.
2. Перенести пробу в колонку и центрифугировать 30 сек. Удалить фильтрат из собирательной пробирки.
  - ▶ *Максимальный объем колонки – 800 мкл. Если объем пробы больше 800 мкл, нужно разделить ее на несколько нанесений. После каждого нанесения аликвоты колонку необходимо центрифугировать.*
3. Добавить 700 мкл «Промывочного раствора» в колонку, центрифугировать 30 сек. Удалить фильтрат.
4. Центрифугировать пустую колонку 60 сек для полного удаления промывочного раствора.
5. Поместить колонку в новую пробирку (1.5 – 2 мл).
6. Нанести в центр мембраны 30-50 мкл элюирующего раствора. Центрифугировать 30 сек.
7. **Опция:** элюат повторно нанести на колонку, центрифугировать 30 сек.
  - ▶ *Эта процедура увеличивает выход ДНК примерно на 10%*

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](http://www.evrogen.ru)