

Набор Cleanup Standard

Кат.# BC022

Версия 03 от 15 декабря 2017 г.

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	40 мл
Промывочный раствор (концентрат)	9 мл
Элюирующий раствор (5 mM Tris HCl pH 7.5)	2 x 1.5 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 150 мг геля). Поместить гель в микроцентрифужную пробирку. Объем геля в мкл численно приравнивается к его массе в мг (100 мг геля \simeq 100 мкл).
2. К 1 объему геля добавить 3-5 объемов «Связывающего раствора». Объем «Связывающего раствора» можно варьировать в зависимости от размера фрагмента ДНК: для фрагментов менее 5 тыс. п.о. добавляется 3 объема, для более длинных – 5 объемов.
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 объем изопропанола на 1 объем 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 объема изопропанола на 1 объем 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.

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