

Набор Cleanup Mini

Кат.# BC023

Набор предназначен для выделения концентрированных образцов двухцепочечной ДНК (70-10000 п.о.) из агарозных гелей и реакционных смесей (ПЦР, рестрикция, лигирование и т.д.) на спин-колонках с уменьшенным размером фильтра благодаря использованию малых объемов элюирующего раствора.

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: не менее 5 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
Мини спин-колонки	50 шт
Собираательные пробирки (2 мл, без крышки)	50 шт
Связывающий раствор	30 мл
Промывочный раствор (концентрат)	9 мл
Элюирующий раствор	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 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 10-15 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