

Cleanup Mini

Набор для очистки ДНК из агарозного геля и реакционных смесей

Номера по каталогу:

BC023S — на 50 реакций

BC023L — на 250 реакций

Инструкция по применению

1. Назначение

Набор предназначен для очистки фрагментов двухцепочечной ДНК из агарозного геля и ферментативных реакционных смесей (ПЦР, рестрикция, лигирование и т.д.). Очищенная ДНК пригодна для ПЦР, секвенирования, рестрикции, лигирования, трансформации, трансфекции и других молекулярно-биологических приложений.

Только для использования в научно-исследовательских целях.

2. Преимущества

- Очистка от агарозы, минерального масла и примесей (нуклеотидов, праймеров, коротких фрагментов нуклеиновых кислот, солей, белков, ингибиторов ферментативных реакций и др.).
- В состав набора входят колонки с уменьшенным фильтром, что позволяет снизить объем элюции и сконцентрировать очищенную ДНК.

3. Состав

Компоненты набора	BC023S 50 реакций	BC023L 250 реакций
Спин-колонки MN	50 шт.	250 шт. (5 x 50 шт.)
Собираательные пробирки	50 шт.	250 шт. (5 x 50 шт.)
Связывающий раствор	40 мл	240 мл
Промывочный раствор (концентрат)	20 мл	50 мл
Элюирующий раствор	1.5 мл	15 мл

Объемы растворов рассчитаны на использование усредненного количества биоматериала: 150 мг фрагмента агарозного геля или 100 мкл реакционной смеси.

4. Условия хранения и транспортировки

Хранение и транспортировка: при комнатной температуре в сухом, защищенном от света месте в упаковке производителя.

Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

5. Метод

Связывание ДНК на мембране колонки происходит в присутствии высококонцентрированных хаотропных веществ в условиях оптимально выбранного pH. Последующее использование промывочного буфера позволяет избавиться от нуклеотидов, праймеров, коротких фрагментов нуклеиновых кислот, солей, белков, ингибиторов ферментативных реакций, а также агарозы, минерального масла и примесей органических соединений. Элюция ДНК происходит в слабощелочных условиях низкосолевым буфером.

6. Основные характеристики

- Емкость: до 7 мкг ДНК.
- Количество биоматериала: до 200 мг 2% агарозного геля или до 160 мкл реакционной смеси. Суммарное количество очищаемой ДНК должно быть не менее 50 нг.
- Размер фрагментов выделяемой ДНК: 100–10 000 п.о.
- Объем выделенного образца ДНК (элюата): 30 мкл.
- Выход ДНК: до 80% из агарозного геля, до 90% из реакционной смеси.
- Чистота: A260/A280 \geq 1.8.

7. Необходимое оборудование и дополнительные материалы

- Твердотельный термостат.
- Настольная центрифуга для пробирок с ускорением 7 000 g.
- Вортекс.
- Мини-центрифуга.
- Скальпель и весы (для выделения ДНК из геля).
- Автоматические дозаторы на 20, 200 и 1 000 мкл.
- Наконечники для дозаторов с фильтрами.
- Микроцентрифужные пробирки объемом 1.5 и 2 мл.
- Этанол 96%.
- Изопропанол (в случае очистки фрагментов менее 500 п.о. или более 4 000 п.о.).

8. Биологический материал

Фрагмент ДНК в агарозном геле (концентрация агарозы не более 2%) или реакционной смеси.

9. Протокол

Общее время работы 15–40 минут.

9.1. Подготовка растворов

1.1. Добавьте этиловый спирт (96%) во флакон с концентрированным «Промывочным раствором» в количестве:

BC023S — 90 мл,

BC023L — 220 мл в каждый флакон.

Тщательно перемешайте раствор переворачиванием, нанесите пометку о выполнении операции на крышку флакона.

1.2. Проверьте флакон со «Связывающим раствором» на наличие осадка. При обнаружении осадка прогрейте флакон при температуре от +37 до +50 °С до полного растворения осадка.

1.3. Поместите «Элюирующий раствор» в термостат на +56 °С для улучшения элюции.

9.2. Подготовка биоматериала

А. Агарозный гель.

► Концентрация агарозы в геле должна быть не более 2%, масса геля — не более 200 мг. Объемы растворов в наборе рассчитаны на средний вес фрагментов геля 150 мг.

2.1. Вырезать и взвесить фрагмент геля, содержащий ДНК. Поместить его в пробирку объемом 2 мл.

► Допускается приравнивать массу фрагмента геля к его объему: 100 мг = 100 мкл.

2.2. В пробирку с гелем добавьте 3 объема «Связывающего раствора», но не менее 350 мкл.

ВНИМАНИЕ! При использовании гелей с концентрацией агарозы $\geq 1.8\%$, количество «Связывающего раствора» следует увеличить до 4–5 объемов от объема (массы) геля.

2.3. Инкубируйте смесь при температуре 50–55 °С до полного растворения геля. Для ускорения растворения рекомендуется перемешивать раствор встряхиванием пробирки.

2.4. **Опция:** для фрагментов длиной менее 500 и более 4 000 п.о. рекомендуется добавить изопропанол в объеме, равном объему геля (1:1). Изопропанол следует добавлять после полного растворения геля, затем смесь необходимо перемешать.

2.5. Перейдите к п. 9.3 «Проведение протокола».

Б. Реакционная смесь.

► *Объемы растворов в наборе рассчитаны на средний объем реакционной смеси 100 мкл.*

2.6. Добавьте в пробирку с реакционной смесью 5 объемов «Связывающего раствора», но не менее 350 мкл. В случае, если образец находится под маслом, объем масла не учитывается. Перемешайте раствор.

2.7. **Опция:** для фрагментов длиной менее 500 и более 4 000 п.о. рекомендуется добавить изопропанол в 2 раза большем объеме, чем реакционная смесь (2:1). После добавления изопропанола смесь необходимо перемешать.

2.8. Перейдите к п. 9.3 «Проведение протокола».

9.3. Проведение протокола

ВНИМАНИЕ!

Все центрифугирования проводятся при 7 000 g (10 000 об/мин для настольной центрифуги Eppendorf Minispin) при комнатной температуре.

3.1. Поместите колонку в собирательную пробирку.

3.2. Перенесите образец, подготовленный согласно пункту 9.2, в колонку и центрифугировать 30 секунд. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.

ВНИМАНИЕ! Максимальный объем колонки: 750 мкл. Если объем пробы больше 750 мкл, нужно разделить его на несколько нанесений. После каждого нанесения аликвоты колонку необходимо центрифугировать.

3.3. Добавьте в колонку 700 мкл «Промывочного раствора», центрифугировать 30 секунд. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.

3.4. Центрифугируйте пустую колонку 1 минуту для полного удаления «Промывочного раствора».

3.5. Перенесите колонку в новую пробирку объемом 1.5 или 2.0 мл.

3.6. Не касаясь наконечником мембраны колонки, нанесите в ее центр 30 мкл «Элюирующего раствора».

► Для получения высококонцентрированного образца объем «Элюирующего раствора» следует уменьшить до 15 мкл.

3.7. Центрифугируйте 1 минуту для сбора очищенной ДНК.

Очищенная ДНК хранится при температуре -20°C до 1 года.

10. Возможные проблемы и способы их решения

Возможные проблемы	Причины и способы решения
Низкий выход ДНК	<ol style="list-style-type: none">1. Неверно рассчитан объем связывающего буфера.2. Не полностью расплавилась агароза и фрагменты геля забили мембрану колонки.3. При выделении фрагментов ДНК длиной менее 500 п.о. и более 4 000 п.о. к связывающему буферу не был добавлен изопропанол. Проверьте правильность выполнения протокола.4. Не был добавлен спирт в промывочный буфер. Проверьте плотность закрытия крышки флакона с промывочным раствором, правильность подготовки растворов и выполнения протокола.5. Элюирующий буфер был нанесен не в центр мембраны колонки и, возможно, попал на стенки пробирки. Проверьте правильность выполнения протокола.

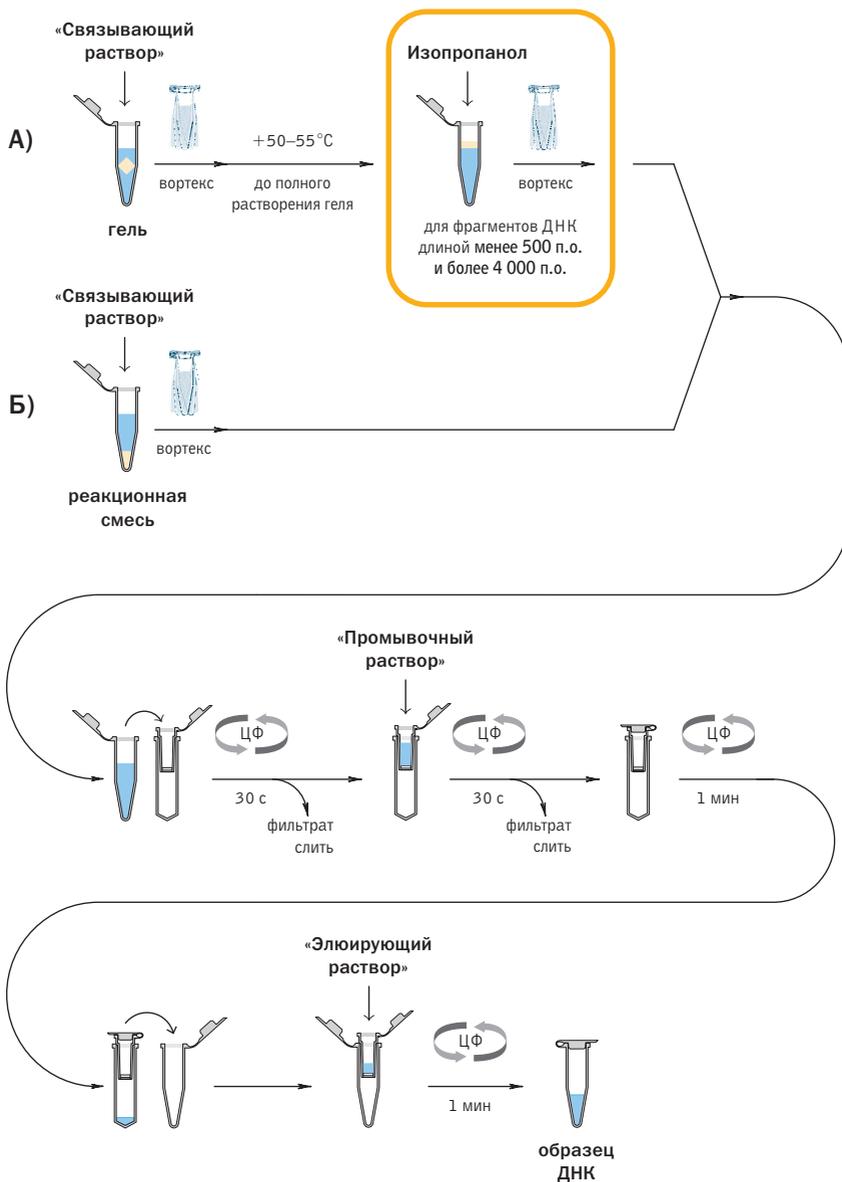


Рисунок 1 — схема очистки ДНК.

Наборы и сервисы Евроген

Н >>> – ссылка на страницу НАБОРА

Выделение и очистка нуклеиновых кислот **Н** >>>

С >>> – ссылка на страницу СЕРВИСА

Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ **Н** >>>

Синтез и амплификация кДНК **Н** >>> **С** >>>

Клонирование ДНК **Н** >>> **С** >>>

Выявление контаминации микоплазмой **Н** >>>

Оценка ДНК **Н** >>>

Нормализация кДНК **Н** >>> **С** >>>

Практикум по генной инженерии **Н** >>>

Генотипирование **Н** >>>

Синтез олигонуклеотидов и зондов **С** >>>

Секвенирование по Сэнгеру **С** >>>

NGS секвенирование **С** >>>

Синтез генов **С** >>>

Сайт-направленный мутагенез **С** >>>

Синтез органических соединений **С** >>>

Консультация по продуктам: support@evrogen.ru

Подробную информацию о наших наборах и сервисах можно получить на сайте www.evrogen.ru

ЗАО Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15
Тел.: +7 (495) 784-7084
order@evrogen.ru
www.evrogen.ru