Набор Plasmid Midiprep

Кат.# BC024

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 250 мкг плазмидной ДНК
- Очищенная ДНК пригодна для всех молекулярно-биологических процедур (ПЦР, секвенирование, рестрикция, трансформация, трансфекция и др.)

Состав набора

Компоненты набора	Кол-во
Спин-колонки	25 шт
РНКаза А (лиофилизированная)	21.5 мг
Ресуспендирующий раствор	130 мл
Лизирующий раствор	130 мл
Нейтрализующий раствор	180 мл
Промывочный раствор (концентрат)	2x43 мл
Элюирующий раствор (5 mM Tris HCl pH 7.5)	30 мл

Транспортировка: при комнатной температуре;

Хранение: «Ресуспендирующий раствор» после добавления РНКазы А хранить при +4°С; остальные компоненты - при комнатной температуре.

Срок хранения: при соблюдении условий хранения и транспортировки 1 год.

Необходимые материалы

- Центрифужные пробирки объемом 50 мл
- Этиловый спирт (96%)

Подготовка растворов

- Добавьте по 150 мл этилового спирта (96%) в каждый флакон с концентрированным «Промывочным раствором». Рекомендуется нанести пометки о выполнении операции на крышки флаконов.
- Добавьте к лиофилизированной РНКазе А небольшой объем (примерно 20 мл) «Ресуспендирующего раствора». Перенесите полученный раствор РНКазы А во флакон с «Ресуспендирующим раствором».

Протокол выделения плазмидной ДНК

▶ *Все центрифугирования проводят в охлаждаемой центрифуге для 50 мл пробирок при +4°C на скорости 4500-5000 об/мин.*

▶ *Перед началом работы:*
а. Охладите «Нейтрализующий раствор» на льду;
б. Нагрейте «Элюирующий раствор» до +50°C.

1. Перенесите 20-50 мл бактериальной культуры в 50 мл пробирку, осадите клетки центрифугированием в течение 10 минут. Полностью удалите супернатант.
2. Центрифугируйте пробирку с осадком 30 сек. Удалите остатки супернатанта пипеткой.
3. Добавьте 4 мл «Ресуспендирующего раствора» к осадку и тщательно ресуспендируйте (например, на вортексе).
4. Добавьте 4 мл «Лизирующего раствора». Осторожно перемешайте содержимое пробирки, переворачивая пробирку до тех пор, пока лизат не станет прозрачным, но не более 4 минут (для предотвращения денатурации плазмидной ДНК).

   ▶ *Не используйте вортекс: быстрое перемешивание приводит к разрыву бактериальной хромосомы и загрязнению препарата плазмиды геномной ДНК.*

5. Добавьте 6 мл предварительно охлаждённого «Нейтрализующего раствора», перемешайте содержимое, переворачивая пробирку до образования творожистой взвеси. Инкубируйте 10 минут во льду или при +4°C.

   ▶ *Не используйте вортекс.*

6. Центрифугируйте пробирку в течение 30 мин. Перенесите осветленный супернатант в новую 50 мл пробирку.
7. Центрифугируйте пробирку с супернатантом в течении 20 минут.
8. Поместите спин-колонку в новую 50 мл пробирку.
9. Перенесите 7 мл осветленного бактериального лизата в колонку. Центрифугируйте колонку 1 минуту.

   ▶ *В процессе центрифугирования плазмидная ДНК сорбируется на силиконовом носителе колонки.*
10. Повторите стадию 9 протокола несколько раз до полного перенесения лизата в колонку.
11. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.
12. Добавьте 5 мл «Промывочного раствора» в колонку. Центрифугируйте колонку 30 сек.
13. Добавьте 5 мл «Промывочного раствора» в колонку. Центрифугируйте колонку от 5 до 15 мин, до полного осушения колонки.
14. Поместите колонку в новую 50 мл пробирку.
15. Нанестите на мембрану 500-900 мкл предварительно нагретого до 50°С «Элюирующего раствора». Инкубируйте 1 минуту при комнатной температуре. Центрифугируйте колонку 5 минут для сбора очищенной ДНК.

Очищенная ДНК пригодна для любых генно-инженерных приложений. Хранить при -20°С.

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 генной инженерии P
Синтез олигонуклеотидов и зондов S
Секвенирование по Сэнгеру S
Секвенирование следующего поколения (NGS) S
Синтез генов S
Сайт-направленный мутагенез S

P – ссылка на страницу ПРОДУКТА
S – ссылка на страницу УСЛУГИ

Техническая поддержка: customer-support@evrogen.ru

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 трансфецированных 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