

Набор Cleanup S-Cap

Кат. ## BC041S, BC041L

Версия 01 от 15 ноября 2018 г.

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

В состав набора входят **спин-колонки S-Cap с крышкой**.

Использование микроцентрифужных колонок с крышкой позволяет уменьшить уровень загрязнения рабочего пространства и снизить вероятность кросс-контаминации образцов.

В ходе очистки при высокой концентрации хаотропных веществ ДНК обратимо сорбируется на мембране из сорбента silica. При этом обеспечивается избирательное связывание двухцепочечной ДНК, тогда как одноцепочечная ДНК, РНК, соли, белки, нуклеотиды, ингибиторы ПЦР, двухвалентные катионы и другие примеси остаются в растворе.

Рекомендуемый объем элюции: 50 мкл.

Для повышения выхода ДНК на 10–15% можно увеличить объем «Элюирующего раствора» до 100 мкл. Для получения высококонцентрированного образца объем элюирующего буфера можно, напротив, уменьшить до 20–30 мкл.

Рекомендуемая масса геля: 150 мг.

Колонка позволяет очистить ДНК из геля массой до 300 мг.

Элюированная ДНК пригодна для ПЦР, ПЦР-РВ, ферментативных реакций, пробоподготовки для секвенирования методом Сэнгера и NGS.

Основные свойства

- Емкость колонки: до 20 мкг ДНК;
- Выход ДНК: до 70% (элюция ДНК из геля), до 90% (очистка ДНК из реакционных смесей);
- Размер ДНК: 70–10 000 п.о.;
- ДНК может быть выделена из всех типов агарозы и любых ферментативных реакционных смесей;
- Концентрация геля: не более 2%;
- Отсутствуют стадии переосаждения ДНК спиртом и хлороформ-фенольной экстракции;
- Нет необходимости в удалении минерального масла (при очистке ПЦР-продукта);
- Общее время выделения: 10–20 мин (зависит от количества образцов).

Состав набора

Компоненты набора	Набор Cleanup S-Cap BC041S	Набор Cleanup S-Cap BC041L
Спин-колонки S-Cap	50 шт	250 шт (5 x 50 шт)
Собирающие пробирки (2 мл, без крышки)	50 шт	250 шт (5 x 50 шт)
Связывающий раствор S	40 мл	240 мл
Промывочный раствор (концентрат)	17 мл	86 мл (2 x 43 мл)
Элюирующий раствор (5 mM Tris HCl pH 8.0)	4.5 мл (3 x 1.5 мл)	30 мл

Транспортировка и хранение: при комнатной температуре.

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

Необходимые дополнительные материалы

- Микроцентрифужные пробирки (1.5 и 2 мл) для сбора элюата;
- Этанол (96%);
- Изопропанол (в случае очистки фрагментов менее 200 п.о. или более 4 000 п.о.)

Подготовка растворов

Добавить 60 мл этанола (96%) во флакон с концентрированным «Промывочным раствором» и перемешать. Нанести пометку о добавлении спирта на крышку флакона.

ПРОТОКОЛ

I. Пробоподготовка

А. Экстракция ДНК из агарозного геля

► *Объемы растворов в наборе рассчитаны на средний вес фрагментов геля 150 мг.*

1. Вырезать фрагмент геля с целевой ДНК и взвесить. Поместить гель в микроцентрифужную пробирку объемом 2 мл. Масса геля в мг численно приравнивается к его объему в мкл (100 мг геля = 100 мкл).
2. В пробирку с гелем добавить 3 объема «Связывающего раствора S», но не менее 350 мкл.

ВНИМАНИЕ! ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГЕЛЕЙ С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ АГАРОЗЫ $\geq 1.8\%$, КОЛИЧЕСТВО «СВЯЗЫВАЮЩЕГО РАСТВОРА S» СЛЕДУЕТ УВЕЛИЧИТЬ ДО 4–5 ОБЪЕМОВ ОТ ОБЪЕМА (МАССЫ) ГЕЛЯ.

3. Инкубировать смесь при 50–55 °С до полного растворения геля. Для ускорения растворения рекомендуется перемешивать раствор встряхиванием пробирки.
4. **Опция:** для фрагментов длиной менее 200 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.
5. Перейти к пункту «II. Выделение ДНК на колонке».

Б. Экстракция ДНК из реакционных смесей

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

1. Добавить 5 объемов «Связывающего раствора S», но не менее 350 мкл. Перемешать раствор.
2. **Опция:** для фрагментов длиной менее 200 и более 4 000 п.о. рекомендуется добавить изопропанол в количестве, превышающем объем реакционной смеси в 2 раза (2:1). Смесь необходимо перемешать.
3. Перейти к пункту «II. Выделение ДНК на колонке».

II. Выделение ДНК на колонке

ВНИМАНИЕ!

ВСЕ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ ПРОВОДЯТСЯ ПРИ 11 000 *g* (13 000 об/мин) ПРИ КОМНАТНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ.

Для расчета об/мин воспользуйтесь формулой: $RPM = \sqrt{\frac{RCF \times 10^5}{1.118 \times r}}$

где *RPM* – частота вращения в оборотах в минуту,
RCF – относительное ускорение центрифуги (*g*), *r* – радиус ротора в см.

1. Поместить спин-колонку в собирательную пробирку.
2. Перенести пробу в колонку и центрифугировать 30 с. Удалить фильтрат из собирательной пробирки.

ВНИМАНИЕ! МАКСИМАЛЬНЫЙ ОБЪЕМ КОЛОНКИ: 800 мкл.

Если объем пробы больше 800 мкл, нужно разделить его на несколько нанесений. После каждого нанесения аликвоты колонку необходимо центрифугировать.

3. Добавить в колонку 750 мкл «Промывочного раствора», центрифугировать 30 с. Удалить фильтрат из собирательной пробирки.
4. **Опция:** для повышения чистоты препарата рекомендуется выполнить п.3 повторно.
5. Центрифугировать пустую колонку 2 мин для полного удаления промывочного раствора.
6. Перенести колонку в новую пробирку 1.5 мл.
7. Нанести в центр мембраны 30–100 мкл «Элюирующего раствора».
8. Инкубировать при комнатной температуре 1 минуту.
9. Центрифугировать 1 минуту.
10. **Опция:** элюат повторно нанести на колонку, центрифугировать 1 мин. Эта процедура увеличивает выход ДНК примерно на 5–10%.

Ограничение использования

Наборы предназначены только для научно-исследовательских целей.

Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, корпус 15
Тел.: +7 (495) 988-4083
www.evrogen.ru
order@evrogen.ru