



CleanMag DNA

Набор реактивов для очистки ДНК на магнитных частицах

Номера по каталогу

BC35T

BC35S

BC35M

BC35L

Инструкция по применению

Набор реактивов CleanMag DNA предназначен только для исследовательских работ, выполняемых профессионально подготовленными пользователями

Содержание

I.	Состав и условия хранения набора	4
II.	Описание продукта	4
II.1.	Области применения очищенной ДНК	5
II.2.	Основные свойства	5
II.3.	Принцип действия	6
II.4.	Необходимые дополнительные материалы и оборудо- вание	6
III.	Протокол	7
III.1.	Перед началом работы	7
III.2.	Протокол очистки ДНК	7

I. Состав и условия хранения набора

Кат.#	Состав
BC35T	Суспензия магнитных частиц CleanMag DNA – 1 мл (пробирка, 1 мл – 1 шт)
BC35S	Суспензия магнитных частиц CleanMag DNA – 5 мл (пробирка, 1 мл – 5 шт)
BC35M	Суспензия магнитных частиц CleanMag DNA – 25 мл (флакон, 25 мл – 1 шт)
BC35L	Суспензия магнитных частиц CleanMag DNA – 100 мл (флакон, 25 мл – 4 шт)

Хранение: в холодильнике +4° – +10°C.

Транспортировка: при комнатной температуре.

▶ *НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ!*

Срок хранения: при соблюдении условий хранения и транспортировки – 1 год со дня поставки.

- ▶ *Количество образцов, которые могут быть очищены с помощью магнитных частиц CleanMag DNA, определяется объемом пробы ДНК.*
- ▶ *1 мл магнитных частиц обеспечивает очистку 20 образцов в объеме 25 мкл.*
- ▶ *10 мкл суспензии магнитных частиц связывают до 10 мкг ДНК, если в исходном образце присутствует ДНК в высокой концентрации.*

II. Описание продукта

Набор предназначен для очистки одно- и двухцепочечных молекул ДНК длиной более 100 нуклеотидов из реакционных смесей (ампликоны, геномная ДНК, κДНК).

Принцип метода, реализованного в наборе, основан на обратимом связывании ДНК на поверхности магнитных частиц, которые легко осаждаются из суспензии с помощью магнитного штатива (не входит в набор).

Метод не требует фильтрации ДНК через сорбент методом центрифугирования, что снижает вероятность дополнительной фрагментации ДНК.

Полученная ДНК свободна от примесей реакционных смесей и готова для использования в любых приложениях для молекулярной генетики.

II.1. Области применения очищенной ДНК

- ПЦР
- Генотипирование
- Секвенирование (по Сэнгеру, NGS)
- Клонирование
- Анализ на микрочипах
- Фрагментный анализ
- Любые ферментативные реакции

II.2. Основные свойства

- Очистка одно- и двухцепочечной ДНК из реакционных смесей;
- Эффективная очистка ДНК с длиной молекул более 100 п.о.;
- Эффективная очистка от несвязанных dNTP, праймеров, димеров праймеров, солей и других примесей;
- Емкость суспензии – 1 мкл магнитных частиц связывает до 1 мкг ДНК (в условиях количественного избытка ДНК, при концентрации 100 нг/мкл);
- Потери ДНК при очистке по стандартному протоколу не более 30%;
- Высокая скорость и простота работы при больших объемах (общее время выделения менее 30 мин, из них ручных манипуляций – от 5 мин (зависит от количества образцов));
- Стабильное хранение ДНК после очистки;
- Фильтрация ДНК через сорбент методом центрифугирования не требуется;
- При очистке не происходит дополнительной фрагментации ДНК.

II.3. Принцип действия

CleanMag DNA является тонкой суспензией (до 5%) магнитных частиц в водном растворе. Магнитные частицы представляют собой парамагнитное ядро с высокоразвитой поверхностью. Поверхность покрыта полимерной пленкой, на которой экспонированы ковалентно-связанные карбоксильные группы.

Метод выделения ДНК с использованием магнитных частиц основан на двух принципах:

- способность поверхности частиц обратимо связывать молекулы ДНК;
- возможность легко осадить ресуспендированные магнитные частицы из водного раствора при помощи магнитного поля.

В отсутствие магнитного поля частицы между собой не слипаются, но на магните происходит их моментальная иммобилизация, что позволяет быстро сменить раствор, в котором они ресуспендированы.

II.4. Необходимые дополнительные материалы и оборудование

Реагенты

- Для элюции ДНК - вода для ПЦР или любой низкосолевой раствор (например, Буфер для разведения ДНК, кат. № PB021 Евроген)
- Этиловый спирт (96%)

Оборудование

- Магнитный штатив (например, МагСтенд, кат. № BC036 или BC037, Евроген)
- Встряхиватель для пробирок типа вортекс
- Микроцентрифужные пробирки (объем зависит от типа используемого магнитного штатива)
- Настольная мини-центрифуга
- Твердотельный термостат (опционально)

III. Протокол

III.1. Перед началом работы

Из 96%-го раствора этилового спирта приготовьте 80%-й раствор:

Общий объем, мл	Объем 96% этанола, мл	Объем воды, мл
1	0.83	0.17 (до 1 мл)
5	4.15	0.85 (до 5 мл)

Этанол летуч, и его испарение происходит даже в водном растворе. Поэтому при длительном хранении процентное содержание этанола в водном растворе снижается. Раствор этанола следует хранить в таре с плотно закрытой крышкой не более 1 месяца.

III.2. Протокол очистки ДНК

- 1) Перед началом работы достаньте из холодильника суспензию магнитных частиц CleanMag DNA, **тщательно перемешайте на вортексе**. Инкубируйте пробирку около 30 мин при комнатной температуре. После инкубации еще раз встряхните частицы на вортексе.
- 2) Измерьте объем раствора, из которого предполагается очистить ДНК. Добавьте к раствору ДНК **два объема** суспензии магнитных частиц. Тщательно перемешайте пипетированием или на вортексе. Суспензия должна стать гомогенной.
 - ▶ На этом этапе происходит связывание частиц с ДНК размером от 100 п.о.
- 3) Инкубируйте пробирку от 5 мин на столе, желательно в процессе инкубации 2-3 раза перемешать суспензию переворачиванием пробирки. Увеличение времени инкубации до 20-40 мин повышает эффективность связывания ДНК с частицами при высоких (от 200 нг/мкл) и низких (до 1 нг/мкл) концентрациях.
- 4) Сбросьте капли с крышки пробирки на миницентрифуге 2-3 сек.
- 5) Поместите пробирку в магнитный штатив.
- 6) Инкубируйте пробирку 2-5 мин в штативе, пока раствор не станет прозрачным.

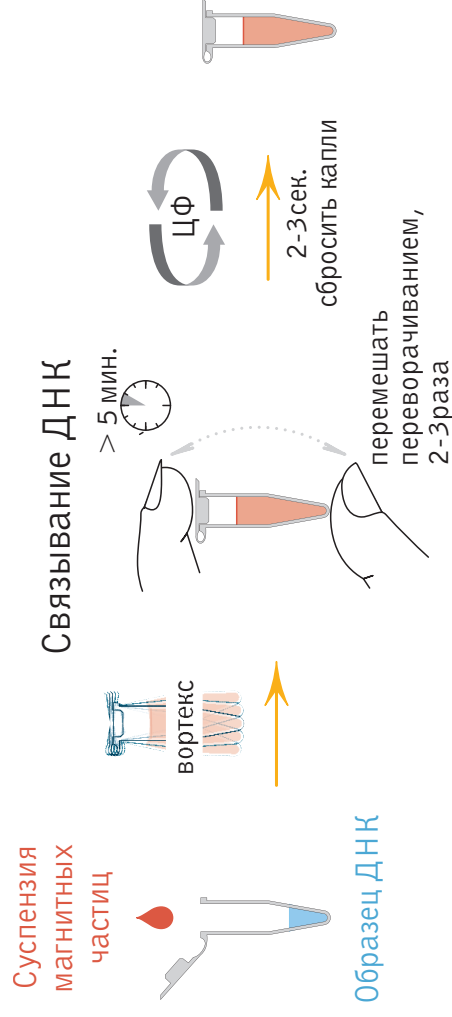
III Протокол

- ▶ *Не переходите к следующему этапу, если раствор остается мутным.*
- 7) Не вынимая пробирку из магнитного штатива, аккуратно отберите пипеткой прозрачный раствор, не задевая носиком массы частиц. Отобранный раствор выбросьте вместе с наконечником.
- ▶ *Рекомендуется оставить небольшое количество жидкости на дне пробирки во избежание захвата частиц в наконечник пипетки.*
- 8) Не меняя положение пробирки в штативе, добавьте в нее 80%-й этанол объемом в шесть раз больше объема исходного раствора ДНК (но не менее 200 мкл). Через 30 сек отберите этанол.
- ▶ *На этапе промывки сформированный осадок магнитных частиц не перемешивать и не менять положение пробирки в штативе. Если случайно пробирка была вынута из штатива, то для формирования осадка ее необходимо вернуть в штатив и инкубировать 2-3 мин.*
 - ▶ *При промывке 80%-м этанолом сформированные частицы обычно не взмучиваются, поэтому промывочный раствор нужно удалять по возможности полностью, не оставляя жидкость на дне.*
- 9) Повторите п.8
- 10) Достаньте пробирки из магнитного штатива и сбросьте капли со стенок импульсным центрифугированием на настольной центрифуге (5-10 сек при максимальных оборотах). Отберите капли со дна пробирки.
- ▶ *После промывания 80%-м этанолом сформированная масса частиц не распадается, поэтому при снятии пробирки со штатива частицы остаются на стенке пробирки.*
- 11) Пробирки с открытыми крышками поместите в твердотельный термостат при 40-43°C на 5 мин или оставьте в штативе при комнатной температуре на 10-15 мин до полного высыхания осадка.
- ▶ *Не рекомендуется пересушивать частицы (в сформированном пятне частиц появляются трещины), это приводит к необратимой сорбции ДНК на поверхности частиц и снижает ее выход после элюции.*
- 12) Добавьте в пробирку необходимое количество воды или элюирующего раствора (15-50 мкл).
- ▶ *Объем элюции выбирается в зависимости от планов дальнейшего использования ДНК. Чем меньше объем элюции, тем выше будет*

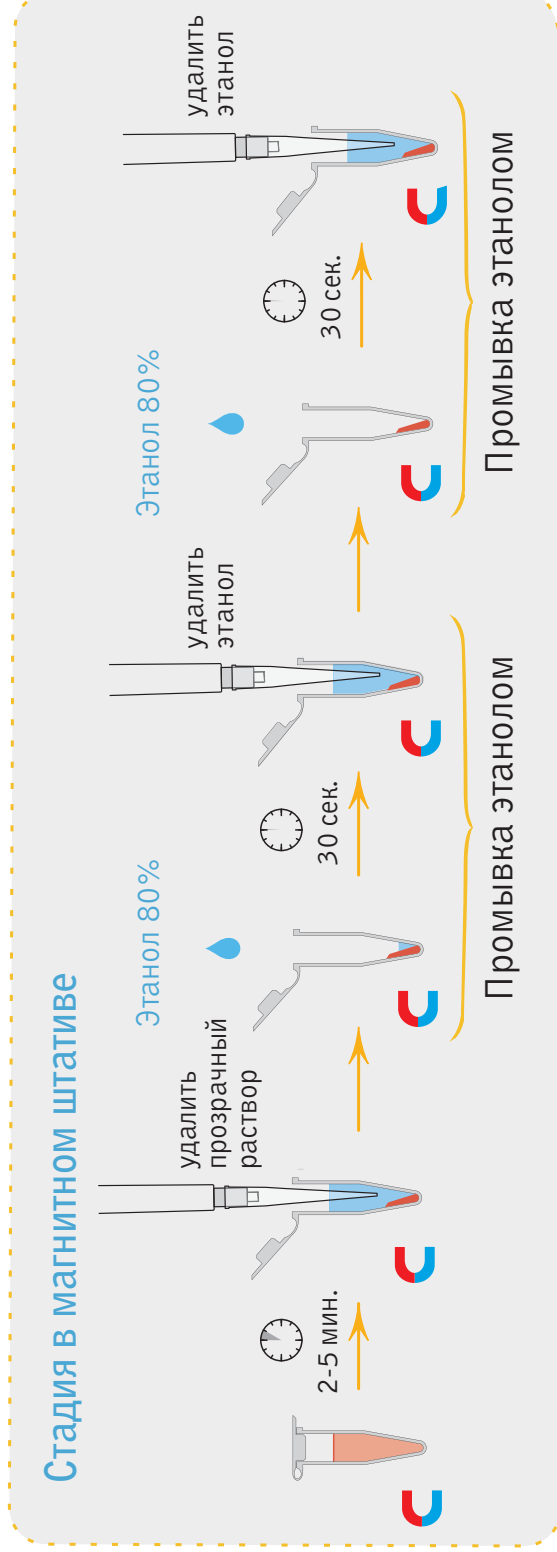
концентрация очищенной ДНК. Однако, при небольших объемах элюции (сопоставимых по объему с размером сформированного осадка), возможны потери части элюата на смачивание осадочной массы.

- 13) Хорошо перемешайте осадок пипетированием или на вортексе до гомогенного состояния суспензии. Инкубируйте при комнатной температуре 2-5 мин.
- 14) **Поместите пробирку в магнитный штатив.**
- 15) Инкубируйте пробирку в штативе 2-5 минут, пока раствор не станет абсолютно прозрачным.
- 16) Не задевая частиц, перенесите раствор очищенной ДНК в новую пробирку.
 - ▶ *Случайный захват небольшого количества частиц не ингибирует ПЦР и другие энзиматические реакции и не влияет на хранение очищенной ДНК.*

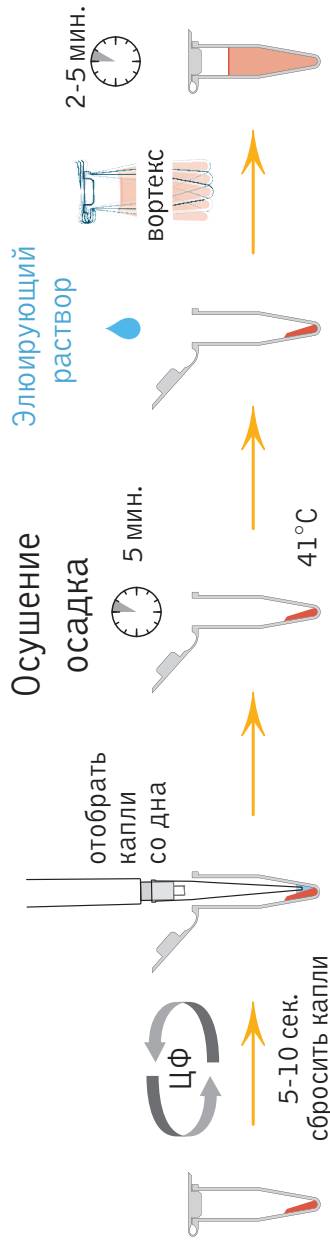
Схема очистки ДНК с помощью магнитных частиц CleanMag DNA



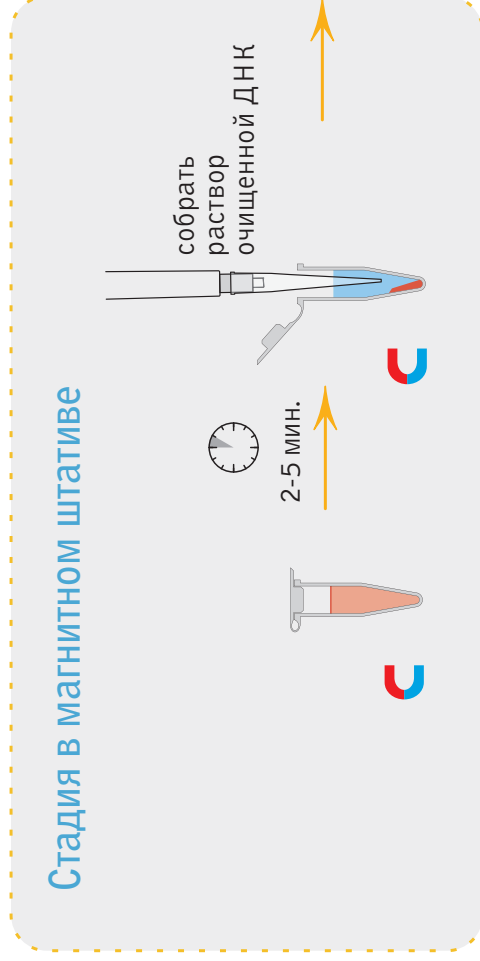
перенести пробирку в магнитный штатив



достать пробирку из магнитного штатива



перенести пробирку в магнитный штатив



Продукты и услуги компании Евроген

P – продукты

S – услуги

Молекулярная биология

Наборы для выделения и очистки нуклеиновых кислот, маркеры длин ДНК **P**

ПЦР, синтез кДНК и RACE **P S**

Клонирование ДНК **P S**

Нормализация кДНК **P S**

Учебные наборы **P**

Синтез олигонуклеотидов и секвенирование **S**

Секвенирование следующего поколения (NGS) **S**

Синтез генов и направленный мутагенез **S**

Приготовление библиотек кДНК **S**

Сложные сервисы **S**

Техническая поддержка: customer-support@evrogen.ru

Клеточная биология

Флуоресцентные белки **P**

Генетически-кодируемые сенсоры и фотосенсибилизаторы **P**

Антитела против флуоресцентных белков **P**

Временная трансфекция клеточных линий **S**

Создание стабильно трансфицированных клеточных линий **S**

Конструирование лентивирусных частиц **S**

Лентивирусные конструкции для РНК-интерференции **S**

Техническая поддержка: customer-support@evrogen.ru

Молекулярная медицина

Наборы для детекции мутаций в протоонкогенах **P**

Услуги в области молекулярной онкологии **S**

Техническая поддержка: md-support@evrogen.ru

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

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
order@evrogen.ru