

# Набор Plasmid Miniprep

Кат. ## BC021S, BC021L

Версия 04 от 8 сентября 2020 г.

Набор предназначен для быстрого выделения плазмидной ДНК высокой степени очистки из культуры клеток *E. coli*. Выделение ДНК основано на применении микроцентрифужных колонок с сорбционными стекловолкнистыми мембранами.

Выход плазмидной ДНК зависит от количества копий плазмиды и использованной для культивирования *E. coli* среды.

## Основные свойства

- Емкость колонки до 20 мкг плазмидной ДНК
- Общее время выделения около 20 мин
- Очищенная ДНК пригодна для всех молекулярно-биологических процедур (ПЦР, секвенирование, рестрикция, трансформация, трансфекция и др.)

## Состав набора

Компоненты набора	BC021S (50 реакций)	BC021L (250 реакций)
Спин-колонок	50 шт.	250 шт (5 x 50 шт.)
Собираемые пробирки (2 мл, без крышки)	50 шт.	250 шт (5 x 50 шт.)
РНКаза А (лиофилизированная)	1.5 мг	7.5 мг
Ресуспендирующий раствор	14 мл	70 мл
Лизирующий раствор	14 мл	70 мл
Нейтрализующий раствор	19 мл	95 мл
Промывочный раствор (концентрат)	9 мл	43 мл
Элюирующий раствор (5 mM Tris HCl pH 7.5)	3 мл (2 x 1.5 мл)	15 мл
Раствор для удаления эндотоксинов	11 мл	55 мл

**Транспортировка:** при комнатной температуре.

**Хранение:** при комнатной температуре до первого использования; «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 со дня поставки.

## Необходимые материалы

- Микроцентрифужные пробирки (1.5-2 мл) для сбора элюата
- Этиловый спирт (96%)

## Подготовка растворов

- Добавьте этиловый спирт (96%) во флакон с концентрированным «Промывочным раствором» в количестве:  
BC021S — 40 мл;  
BC021L — 215 мл.  
Рекомендуется нанести пометку о выполнении операции на крышку флакона.
- Добавьте к лиофилизированной «РНКазе А» небольшой объем (примерно 1 мл) «Ресуспенсирующего раствора». Перенесите полученный раствор «РНказы А» во флакон с «Ресуспенсирующим раствором». Нанесите пометку о выполнении операции на крышку флакона.

## Протокол выделения плазмидной ДНК

1. Если в каком-то из компонентов набора есть осадок, прогрейте этот компонент при температуре от +37 до +50 °С до полного растворения осадка.
2. Перенесите 1-2 мл бактериальной культуры в микроцентрифужную пробирку, осадите клетки центрифугированием в настольной центрифуге в течение 1 минуты на скорости не более 1700 g. Полностью удалите супернатант.
3. Добавьте 250 мкл «Ресуспенсирующего раствора» к осадку и тщательно ресуспенсируйте.
4. Добавьте 250 мкл «Лизирующего раствора». Осторожно перемешайте содержимое пробирки, переворачивая пробирку до тех пор, пока лизат не станет прозрачным. Инкубируйте при комнатной температуре не более 1 минуты.  
  
▶ *Не используйте вортекс: быстрое перемешивание приводит к разрыву бактериальной хромосомы и загрязнению препарата плазмиды геномной ДНК.*
5. Добавьте 350 мкл «Нейтрализующего раствора», перемешайте содержимое, переворачивая пробирку до образования творожистой взвеси. Инкубируйте при комнатной температуре 1 минуту.  
  
▶ *Не используйте вортекс.*
6. Центрифугируйте пробирку в течение 10 минут на максимальной скорости.

ДАЛЕЕ ВСЕ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ ПРОВОДЯТСЯ НА СКОРОСТИ до 7 000 g (10 000 об/мин для настольной центрифуги Eppendorf MiniSpin).

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.

6. Поместите спин-колонку в собирательную пробирку.
7. Нанесите 20 мкл «Раствора для удаления эндотоксинов» на фильтр колонки. Эта процедура улучшает связывание ДНК с носителем.
8. Перенесите осветленный супернатант в спин-колонку. Центрифугируйте колонку 30 с.
9. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.
10. **Опция:** Добавьте 200 мкл «Раствора для удаления эндотоксинов» в колонку. Центрифугируйте колонку 30 с. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.
  - ▶ *Выполнение этой процедуры рекомендуется, если планируется использование плазмидной ДНК для трансфекции или трансформации.*
11. Добавьте 700 мкл «Промывочного раствора» в колонку. Центрифугируйте колонку 30 с. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.
12. Центрифугируйте пустую колонку 1 мин для полного удаления «Промывочного раствора».
13. Поместите колонку в новую пробирку (1.5-2 мл).
14. Оставьте при комнатной температуре на 5 мин для испарения остатка спирта.
15. Нанесите в центр мембраны 50 мкл «Элюирующего раствора». Инкубируйте при комнатной температуре 1 минуту. Центрифугируйте колонку 30 с для сбора очищенной ДНК.

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

## Продукты и услуги компании Евроген

**P** – продукты

**S** – услуги

### 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**

Техническая поддержка: [customer-support@evrogen.ru](mailto: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 трансфицированных клеточных линий **S**

Техническая поддержка: [customer-support@evrogen.ru](mailto:customer-support@evrogen.ru)

### Молекулярно-генетические исследования

Исследования в области молекулярной онкологии  
и генетики наследственных заболеваний **S**

Техническая поддержка: [oncology@evrogen.ru](mailto:oncology@evrogen.ru)

**Подробную информацию о наших продуктах и сервисах  
можно получить на сайте [www.evrogen.ru](http://www.evrogen.ru)**

Москва 117997

ул. Миклухо-Маклая 16/10

Тел.: +7 (495) 988-4083

[www.evrogen.ru](http://www.evrogen.ru)

[order@evrogen.ru](mailto:order@evrogen.ru)