

# Набор Cleanup Standard

Кат. # BC022

Версия 04 от 9 сентября 2020 г.

Набор предназначен для очистки фрагментов двухцепочечной ДНК (70–10 000 п.о.) из агарозных гелей и реакционных смесей (ПЦР, рестрикция, лигирование и т.д.).

Специально подобранный «Связывающий раствор» обеспечивает условия, при которых на фильтре колонки сорбируется только двухцепочечная ДНК, тогда как одноцепочечная ДНК, РНК, соли, ферменты, нуклеотиды и другие вещества остаются в растворе.

На колонке может быть обработано до 200 мг геля; рекомендуемое количество – до 150 мг.

## Основные свойства

- Емкость колонки: до 25 мкг ДНК;
- Размер ДНК: 70–10 000 п.о.;
- ДНК может быть выделена из всех типов агарозы и любых ферментативных реакционных смесей;
- Концентрация геля может достигать 2 %;
- Нет стадий переосаждения ДНК изопропанолом или этанолом и хлороформ-фенольной экстракции;
- Нет необходимости в удалении минерального масла (при очистке ПЦР-продукта);
- Общее время выделения менее 10 мин.

## Состав набора

Компоненты набора	Количество
Спин-колонки Standard микроцентрифужные	50 шт.
Собирательные пробирки (2 мл, без крышки)	50 шт.
Связывающий раствор S	40 мл
Промывочный раствор (концентрат)	17 мл
Элюирующий раствор (5 mM Tris-HCl pH 7.5)	2 x 1.5 мл

**Хранение и транспортировка:** 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 %);
- Изопропанол (в случае очистки фрагментов менее 500 п.о. или более 4 000 п.о.).

## Подготовка растворов

Добавить 60 мл этилового спирта (96 %) во флакон с концентрированным «Промывочным раствором». Рекомендуется нанести пометку о выполнении операции на крышку флакона.

# ПРОТОКОЛ

## I. Пробоподготовка

Если в каком-то из компонентов набора есть осадок, прогрейте этот компонент при температуре от +37 до +50 °С до полного растворения осадка.

### 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. Вес геля в мг численно приравнивается к его объему в мкл (100 мг геля = 100 мкл).
2. К гелю добавить 3 объема «Связывающего раствора», но не менее 350 мкл.

**внимание!** При использовании гелей с концентрацией агарозы 1.8% и выше количество «Связывающего раствора» следует увеличить до 4–5 объемов от объема геля.

3. Инкубировать смесь при 50–55 °С до полного растворения геля. Для ускорения растворения рекомендуется перемешивать раствор встряхиванием пробирки.
4. **Опция:** для фрагментов менее 500 п.о. и более 4 000 п.о. после полного растворения геля дополнительно добавить 1 объем изопропанола на 1 объем геля, смесь 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», но не менее 350 мкл. Перемешать раствор.
2. **Опция:** для фрагментов менее 500 п.о. и более 4 000 п.о. добавить 2 объема изопропанола на 1 объем реакционной смеси, смесь перемешать.
3. Перейти к пункту «II. Выделение ДНК на колонке».

## II. Выделение ДНК на колонке

**ВНИМАНИЕ!** УСЛОВИЯ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ НЕ БОЛЕЕ 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.

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 750 мкл.

Если объем пробы больше 750 мкл, нужно разделить ее на несколько нанесений. После каждого нанесения аликвоты колонку необходимо центрифугировать.

3. Добавить 700 мкл «Промывочного раствора» в колонку, центрифугировать 30 с. Удалить фильтрат.
4. Повторить пункт 3.
5. Центрифугировать пустую колонку 1 мин для полного удаления промывочного раствора.
6. Поместить колонку в новую пробирку (1.5–2 мл).
7. Оставить при комнатной температуре на 5 мин для испарения остатка спирта.
8. Нанести в центр мембраны 50 мкл элюирующего раствора.
9. Центрифугировать 30 с.
10. **Опция:** элюат повторно нанести на колонку, центрифугировать 30 с. Эта процедура увеличивает выход ДНК примерно на 10 %.

Очищенная ДНК пригодна для любых генно-инженерных приложений. Хранить при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### Ограничение использования

Наборы предназначены только для научно-исследовательских целей.

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)