

Набор Cleanup S-Cap

Наборы для очистки ДНК из агарозного геля и реакционных смесей

Кат. ## **BC041S, BC041L**

Версия 04 от 10 сентября 2020 г.

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

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

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

Колонки адаптированы для центрифугирования при ускорении 11 000 g, что обеспечивает наилучшую очистку от примесей.

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 и другие примеси остаются в растворе.

Очищенная ДНК пригодна для ПЦР, ПЦР-РВ, рестрикции, лигирования и других ферментативных реакций, пробоподготовки для секвенирования методами Сэнгера и NGS.

Основные свойства

- Емкость колонки: до 20 мкг ДНК;
- Выход ДНК: до 70% при очистке ДНК из геля, до 90% – из реакционных смесей;
- Размер выделяемой ДНК: 70–10 000 п.о.;
- Центрифугирование при 11 000 g;
- Высокая воспроизводимость результатов выделения (разброс концентрации ДНК не более 15%);
- Общее время выделения: 10–20 мин (зависит от количества образцов).

Состав набора

Компоненты набора	BC041T* (10 реакций)	BC041S (50 реакций)	BC041L (250 реакций)
Спин-колонки S-Car микроцентрифужные	10 шт.	50 шт.	250 шт. (5 x 50 шт.)
Собираательные пробирки (2 мл, без крышки)	10 шт.	50 шт.	250 шт. (5 x 50 шт.)
Связывающий раствор S	10 мл	40 мл	240 мл
Промывочный раствор (концентрат)	3.5 мл	17 мл	86 мл (2 x 43 мл)
Элюирующий раствор (5 mM Tris HCl pH 8.0)	1.5 мл	4.5 мл (3 x 1.5 мл)	30 мл

* Тестер, не для продажи.

Транспортировка и хранение: при комнатной температуре.

Срок хранения: при соблюдении условий хранения и транспортировки 12 месяцев со дня 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 этанол (96%) во флакон с концентрированным «Промывочным раствором» в количестве:

BC041T — 12 мл,

BC041S — 60 мл,

BC041L — 150 мл.

Перемешать и нанести пометку о добавлении спирта 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

► Концентрация агарозы в геле должна быть не более 2%, масса геля — не более 300 мг. 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 температуре 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 в пробирку с реакционной смесью 5 объемов «Связывающего раствора S», но не менее 350 мкл. В случае, если образец находится под маслом, объем масла не учитывается. 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 для НАСТОЛЬНОЙ ЦЕНТРИФУГИ EPPENDORF MINISPIN) 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 700 мкл «Промывочного раствора», центрифугировать 30 с. Удалить фильтрат из собирательной пробирки.
4. Повторить пункт 3.
5. Центрифугировать пустую колонку 2 мин для полного удаления промывочного раствора.
6. Перенести колонку в новую пробирку 1.5 мл.
7. Оставить при комнатной температуре на 5 мин для испарения остатка спирта.
8. Нанести в центр мембраны 30–100 мкл «Элюирующего раствора».
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 раствора можно, напротив, уменьшить до 20–30 мкл.
9. Инкубировать при комнатной температуре 1 минуту.
10. Центрифугировать 1 минуту.
11. **Опция:** повторно нанести элюат 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
Тел.: +7 (495) 988-4083
www.evrogen.ru
order@evrogen.ru