

CleanMag DNA

Набор реактивов для очистки ДНК на магнитных частицах

Номера по каталогу

BC35T – 1 мл

BC35S – 5 мл

BC35M – 25 мл

BC35L – 100 мл

Инструкция по применению

Содержание

I. Назначение	4
II. Метод	4
III. Состав и условия хранения набора	4
IV. Области применения очищенной ДНК	5
V. Основные свойства	5
VI. Принцип действия	6
VII. Необходимые дополнительные материалы и оборудование	6
VIII. Протокол	7
IX. Ограничения к использованию	9
X. Схема очистки ДНК с помощью CleanMag DNA	10

I. Назначение

Набор предназначен для очистки одно- и двухцепочечных молекул ДНК длиной более 100 п.о. нуклеотидов из реакционных смесей (ампликоны, геномная ДНК, кДНК). Очистка на магнитных частицах позволяет удалить ингибиторы ПЦР, которые могут оставаться в образце при выделении ДНК другими методами.

При элюции образец ДНК может быть сконцентрирован в объеме 10 мкл. Эффективная очистка малых количеств ДНК - от 1 нг в образце.

II. Метод

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.

III. Состав и условия хранения набора

Кат. #	Состав	Кол-во реакций по 25 мкл
BC35T	Суспензия магнитных частиц CleanMag DNA, 1 мл (пробирка, 1 мл – 1 шт.)	20
BC35S	Суспензия магнитных частиц CleanMag DNA, 5 мл (пробирка, 1 мл – 5 шт.)	100
BC35M	Суспензия магнитных частиц CleanMag DNA, 25 мл (флакон, 25 мл – 1 шт.)	500
BC35L	Суспензия магнитных частиц CleanMag DNA, 100 мл (флакон, 25 мл – 4 шт.)	2000

Транспортировка: при комнатной температуре.

Хранение: от +4° до +10°C.

► **НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ!**

Срок годности: при соблюдении условий хранения и транспортировки 12 месяцев со дня поставки.

IV. Области применения очищенной ДНК

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

V. Основные свойства

- Очистка одно- и двухцепочечной ДНК из реакционных смесей;
- Эффективная очистка ДНК от несвязанных dNTP, солей и других примесей;
- Очистка от фрагментов ДНК до 100 п.о. (в т.ч. праймеров и их димеров); по модифицированному протоколу – до 150 п.о.;
- Выход фрагментов ДНК длиной 150 п.о. и более – от 70 % при стартовом количестве ДНК от 0.7 нг до 8 мкг (в объеме 20 мкл);
- Селекция фрагментов ДНК по размеру в зависимости от модификации протокола;
- Фрагментация ДНК ниже, чем при очистке на колонках;
- Общее время выделения от 30 мин, из них ручных манипуляций – от 5 мин (зависит от количества образцов);
- Очищенная ДНК стабильно хранится при -20 °С не менее 1 года.

VI. Принцип действия

CleanMag DNA является тонкой суспензией 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.

VII. Необходимые дополнительные материалы и оборудование

Расходные материалы

- Микроцентрифужные пробирки (объем зависит от типа используемого магнитного штатива);
- Вода для ПЦР (например, кат. # РВ007, Евроген) или любой низкосолевой раствор (например, Буфер для разведения ДНК, кат. # РВ021, Евроген) – для элюции ДНК;
- Этиловый спирт (96%).

Оборудование

- Магнитный штатив (например, на пробирки объемом 0.5 мл – кат. # ВС036 или на пробирки 1.5-2 мл – кат. # ВС037, Евроген);
- Встряхиватель для пробирок типа вортекс;
- Настольная мини-центрифуга;
- Твердотельный термостат (опционально).

VIII. Протокол

Подготовка растворов

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

Общий объем, мл	Объем 96 % этанола, мл	Объем воды, мл
1	0.85	0.15
5	4.2	0.8

- ▶ *Внимание: 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.*

Протокол очистки ДНК

- 1) Перед началом работы достаньте из холодильника суспензию магнитных частиц CleanMag DNA, перемешайте **пипетированием** до гомогенного состояния. Инкубируйте пробирку около 30 мин при комнатной температуре. После инкубации еще раз тщательно перемешайте частицы пипетированием.
 - ▶ *Не используйте вортекс для перемешивания частиц, чтобы избежать их частичной фрагментации.*
- 2) Измерьте объем раствора, из которого предполагается очистить ДНК. Рассчитайте необходимый объем добавляемых магнитных частиц:
 - если планируется стандартная очистка для фрагментов от 100 п.о. и выше – добавьте к 1 объему раствора ДНК 2 объема суспензии магнитных частиц.
 - если необходимо избавиться от фрагментов длиной до 150 п.о. (оставить фрагменты 200 п.о. и выше), добавьте к 1 объему раствора ДНК 1.1 объема суспензии.
- 3) Тщательно перемешайте пипетированием. Суспензия должна стать гомогенной.
 - ▶ *На этом этапе происходит связывание частиц с ДНК размером 100 п.о. и более.*
- 4) Инкубируйте пробирку 5 мин (или дольше) на столе. Рекомендуем в процессе инкубации 2-3 раза перемешать суспензию переворачиванием пробирки или постукиванием.

- ▶ Увеличение времени инкубации до 20-30 мин повышает эффективность связывания ДНК с частицами при высоких (от 200 нг/мкл) и низких (до 1 нг/мкл) концентрациях.
При соотношении объемов 1:2 (ДНК : суспензия CleanMag), увеличение времени инкубации до 20 мин дополнительно позволяет в несколько раз увеличить выход фрагментов ДНК длиной от 100 до 200 п.о.
- 5) Сбросьте капли с крышки и стенок пробирки на миницентрифуге-вортексе (2-3 с).
- 6) Поместите пробирку в магнитный штатив.
- 7) Инкубируйте пробирку 2-5 мин в штативе, пока раствор не станет прозрачным.
 - ▶ *Не переходите к следующему этапу, пока раствор остается мутным.*
- 8) Не вынимая пробирку из магнитного штатива, аккуратно отберите пипеткой прозрачный раствор, не задевая носиком массы частиц. Отобранный раствор выбросьте вместе с наконечником.
 - ▶ *На этом этапе частицы могут слегка сползть со стенок при отборе жидкости. Визуально контролируйте положение осадка частиц. Допустимо оставить до 10-20 мкл жидкости на дне пробирки во избежание захвата частиц в наконечник пипетки.*
- 9) 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 с 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.*
- 10) Повторите п. 9.
 - ▶ *При промывке 80%-м этанолом сформированные частицы обычно не взмучиваются, поэтому после второй промывки удалите промывочный раствор полностью, не оставляя жидкость на дне.*
- 11) Достаньте пробирки из магнитного штатива. Если на стенках остались капли, сбросьте их импульсным центрифугированием на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-2 с. Отберите капли со дна пробирки, не задевая осадок частиц. Если капель не было, без стадии центрифугирования сразу переходите к п. 12.

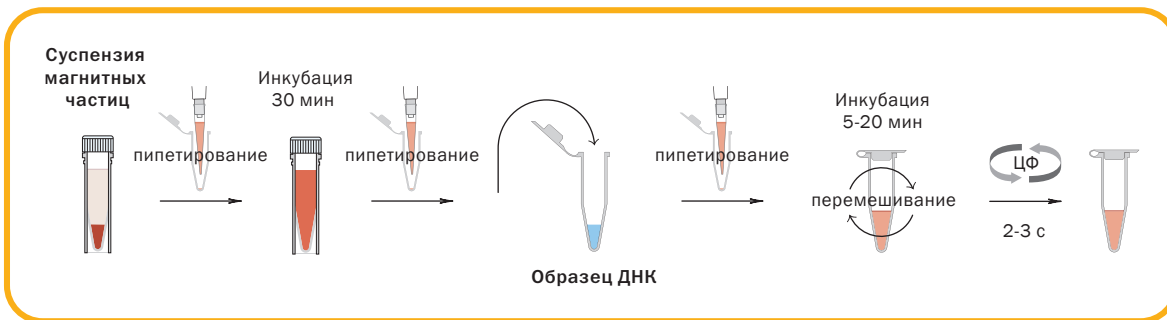
- 12) Пробирки с открытыми крышками поместите в твердотельный термостат при 37 °С на 3 мин или оставьте в штативе при комнатной температуре на 10 мин до полного высыхания осадка.
- ▶ При нужной степени высыхания частицы меняют цвет на более светлый.
 - ▶ Не рекомендуется пересушивать частицы (в сформированном пятне частиц появляются трещины), это может привести к частичному снижению выхода ДНК из-за ее необратимой сорбции на поверхности частиц.
- 13) 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.
- 14) Хорошо перемешайте осадок пипетированием до гомогенного состояния суспензии. Инкубируйте при комнатной температуре 5 мин.
- 15) Поместите пробирку в магнитный штатив. Инкубируйте пробирку в штативе 2-5 мин, пока раствор не станет абсолютно прозрачным.
- ▶ Не переходите к следующему этапу, пока раствор остается мутным.
- 16) Не задевая частиц, перенесите раствор очищенной ДНК в новую пробирку.
- ▶ Случайный захват небольшого количества частиц не влияет на хранение очищенной ДНК, но может ингибировать ПЦР и другие ферментативные реакции. Если некоторое количество частиц попало в элюат, центрифугируйте пробирку с элюатом при максимальном ускорении (от 7000 g) и комнатной температуре в течение 3 мин в настольной центрифуге.
 - ▶ Если необходимо избавиться от фрагментов длиной до 150 п.о., проведите очистку дважды (повторите п.п. 2-16.)

IX. Ограничения к использованию

Наборы предназначены только для научно-исследовательских целей.

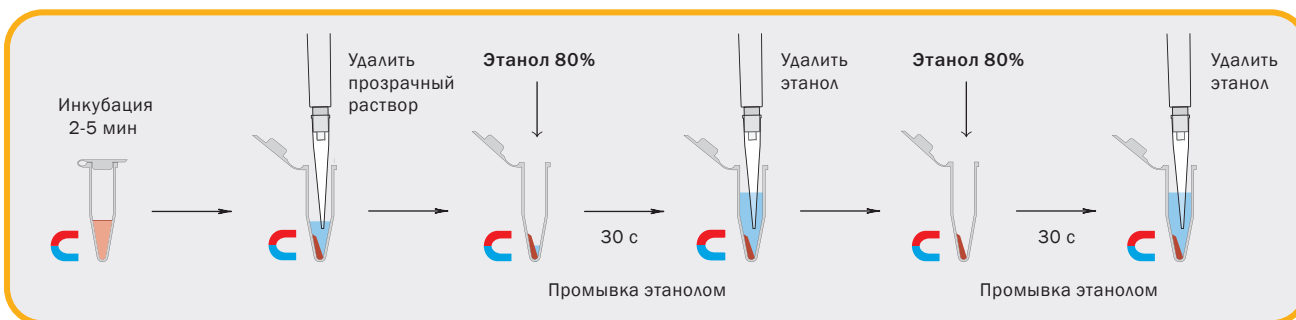
Х. Схема очистки ДНК с помощью CleanMag DNA

Первый этап



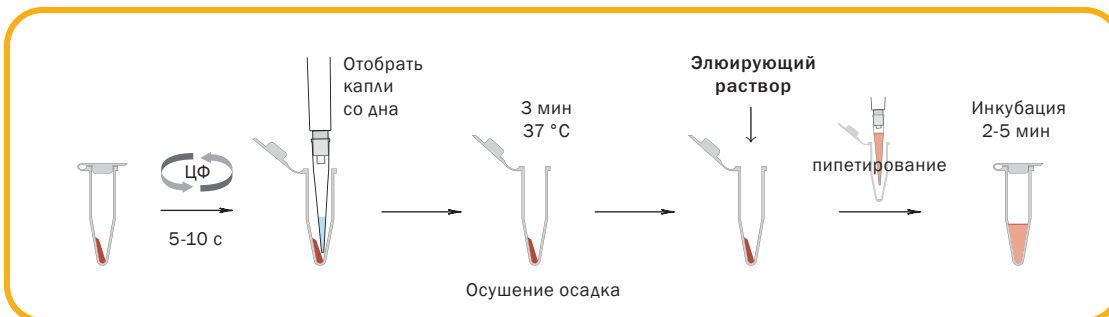
перенести пробирку в магнитный штатив

Второй этап – в магнитном штативе



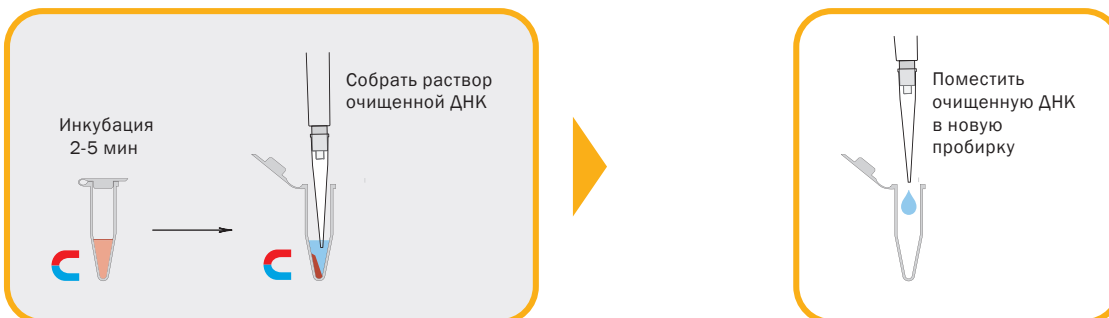
достать пробирку из магнитного штатива

Третий этап



перенести пробирку в магнитный штатив

Четвертый этап – в магнитном штативе



Продукты и услуги компании Евроген

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

P▶▶▶ – ссылка на страницу
ПРОДУКТА

S▶▶▶ – ссылка на страницу
УСЛУГИ

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

Молекулярно-генетические исследования

Исследования в области молекулярной онкологии

и генетики наследственных заболеваний **S**▶▶▶

Техническая поддержка: oncology@evrogen.ru

Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10
Тел.: +7 (495) 988-4083
Факс: +7 (495) 988-4085
www.evrogen.ru