

CleanMag DNA PCR

Набор для очистки ДНК из реакционных смесей на магнитных частицах

Номера по каталогу:

BM135T — на 20 реакций

BM135S — на 100 реакций

BM135M — на 500 реакций

BM135L — на 2 000 реакций

Инструкция по применению

Оглавление

1. Назначение	4
2. Преимущества	4
3. Состав	4
4. Условия хранения и транспортировки	4
5. Метод	4
6. Основные характеристики	5
7. Необходимое оборудование и дополнительные материалы	5
8. Биологический материал	5
9. Протокол	6

1. Назначение

Набор CleanMag DNA PCR предназначен для эффективной очистки фрагментов ДНК из ферментативных реакционных смесей.

CleanMag DNA PCR оптимален для работы с редкими образцами и малым количеством исходного материала. Выделенная ДНК пригодна для ПЦР, рестрикции, лигирования и других молекулярно-биологических приложений.

Только для использования в научно-исследовательских целях.

2. Преимущества

- Очистка малых количеств ДНК (от 10 нг).
- Эффективное связывание фрагментов ДНК от 200 до 10 000 п.о.
- Очистка от минерального масла и примесей (нуклеотидов, праймеров, солей, белков, ингибиторов ферментативных реакций и др.).
- Не требуется проведение дополнительных этапов фильтрации и центрифугирования, что увеличивает сохранность биоматериала.

3. Состав

Компонент	BM135T 20 р-ций	BM135S 100 р-ций	BM135M 500 р-ций	BM135L 2 000 р-ций
Магнитные частицы CleanMag DNA PCR	0.2 мл	1 мл (5 x 0.2 мл)	5 мл	20 мл (4 x 5 мл)
Буфер для разведения магнитных частиц	0.8 мл	4 мл (5 x 0.8 мл)	20 мл	80 мл (4 x 20 мл)

4. Условия хранения и транспортировки

Хранение: +4 °С.

Транспортировка: при комнатной температуре в сухом, защищенном от света месте в упаковке производителя.

ВНИМАНИЕ! Компоненты набора нельзя замораживать.

Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

5. Метод

Принцип метода основан на обратимом связывании ДНК на поверхности магнитных частиц. Связывание ДНК с магнитными частицами происходит в специально подобранном буфере с оптимальным солевым

составом и рН. Частицы с сорбированной на своей поверхности ДНК под действием магнитного поля штатива агрегируют в виде плотного осадка (магнитный штатив не входит в комплект). Несвязавшиеся нуклеотиды, праймеры, короткие фрагменты нуклеиновых кислот, соли, белки, ингибиторы ферментативных реакций, минеральное масло и другие органические соединения остаются в растворе. Последующие промывки 80% этанолом позволяют избавиться от этих примесей. Элюция ДНК с магнитных частиц происходит водой или низкосолевым слабощелочным буфером.

6. Основные характеристики

Характеристика	Значение
Размер фрагментов очищенной ДНК	200–10 000 п.о.
Объем очищенного образца ДНК (элюата)	5–100 мкл
Выход ДНК*	До 90%

* Выход ДНК зависит от длины фрагмента.

7. Необходимое оборудование и дополнительные материалы

- Магнитный штатив (например, для пробирок объемом 0.2 мл — кат. # BC038, объемом 0.5 мл — кат. # BC036M или для пробирок 1.5–2 мл — кат. ## BC037S/M/L, Евроген).
- Настольная центрифуга для пробирок с ускорением от 7 000 g.
- Мини-центрифуга.
- Микроцентрифужные пробирки (объем зависит от типа используемого магнитного штатива).
- Вода деионизированная, свободная от нуклеаз (например, кат. ## PB207S/M/L, Евроген) или любой низкосолевого раствор для элюции ДНК (например, Буфер для разведения ДНК (кат. # PB021, Евроген)).
- Этанол 96%.

8. Биологический материал

ДНК в ферментативной реакционной смеси (ПЦР, рестрикция и т.д.). Суммарное количество очищаемой ДНК в реакционной смеси должно быть от 10 нг до 1 мкг. Допускается использование от 5 до 50 мкл биоматериала. Набор BM135T/S/M/L рассчитан на 20/100/500/2 000 реакций соответственно при использовании 25 мкл биоматериала.

9. Протокол

Общее время работы от 50 минут.

9.1. Подготовка растворов

1.1. 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! При длительном хранении процентное содержание этанола в водном растворе снижается. Раствор этанола следует хранить в таре с плотно закрытой крышкой не более 1 месяца.

1.2. Подготовьте магнитные частицы CleanMag DNA PCR:

- тщательно перемешайте содержимое пробирок пипетированием (BM135T и BM135S) или переворачиванием (BM135M и BM135L) до гомогенного состояния;
- инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре;
- тщательно перемешайте частицы.

► Допускается бережное перемешивание частиц на вортексе.

1.3. Подготовьте буфер для разведения: инкубируйте при комнатной температуре 30 минут.

9.2. Протокол очистки ДНК

2.1. Приготовьте суспензию магнитных частиц:

- определите объем биоматериала (5, 10, 25 или 50 мкл) и количество реакций;
- Рекомендуемое количество биоматериала: от 10 нг до 1 мкг в 25 мкл реакционной смеси.
- рассчитайте необходимое количество магнитных частиц CleanMag DNA PCR и буфера для разведения по формулам:

$$X = \frac{N \times V}{2.5},$$
$$Y = X \times 4, \text{ где:}$$

X — количество магнитных частиц (мкл),

N — количество реакций,

V — количество биоматериала (мкл),

Y — количество буфера для разведения магнитных частиц (мкл);

- в отдельной пробирке приготовьте суспензию магнитных частиц, смешав магнитные частицы CleanMag DNA PCR и буфер для разведения в рассчитанных объемах;
- перемешайте суспензию пипетированием до гомогенного состояния.

ВНИМАНИЕ! Готовая суспензия магнитных частиц с буфером для разведения не подлежит хранению. Для очистки ДНК используйте только свежеприготовленную суспензию.

2.2. К образцу биоматериала добавьте тщательно перемешенную суспензию магнитных частиц согласно таблице:

Объем биоматериала, мкл	Объем суспензии магнитных частиц, мкл
5	10
10	20
25	50
50	100

2.3. Перемешайте раствор пипетированием до гомогенного состояния.

2.4. Инкубируйте в течение 20 минут при комнатной температуре. В процессе инкубации перемешивайте раствор 2–3 раза пипетированием.

2.5. Сбросьте капли с крышки и стенок пробирки на мини-центрифуге (2–3 с).

2.6. Поместите пробирку в магнитный штатив и инкубируйте в течение 2–5 минут, пока раствор не станет прозрачным.

▶ *Не переходите к следующему этапу, пока раствор остается мутным.*

2.7. Не вынимая пробирку из магнитного штатива, аккуратно, не задевая наконечником магнитные частицы, отберите супернатант и утилизируйте его.

▶ *На этом этапе частицы могут слегка перемещаться по стенкам пробирки при отборе жидкости. Визуально контролируйте положение осадка частиц. Допустимо оставить до 10–20 мкл жидкости на дне пробирки во избежание захвата частиц наконечником.*

2.8. Не меняя положение пробирки в штативе, добавьте в нее 200 мкл 80%-ого этанола. Через 30 секунд отберите супернатант и утилизируйте его.

▶ *Не перемешивайте осадок магнитных частиц и не меняйте положение пробирок в магнитном штативе. Если осадок был поврежден и магнитные частицы оказались в растворе, то оставьте пробирки в магнитном штативе на 2–3 минуты, пока раствор не станет прозрачным.*

2.9. Повторите п. 2.8. Полностью удалите супернатант, не оставляя капель на дне пробирки.

2.10. Достаньте пробирку из магнитного штатива.

▶ Если на стенках остались капли, сбросьте их на мини-центрифуге (1–2 с). Отберите капли со дна пробирки, не задевая осадок частиц. Если капель не было, переходите к п. 2.11.

2.11. Для испарения остатков спирта инкубируйте пробирку с открытой крышкой при комнатной температуре в течение 3–10 минут. Допускается инкубация при 37 °С до 5 минут (в зависимости от количества магнитных частиц).

▶ При нужной степени высыхания частицы меняют цвет на более светлый.

▶ Для образцов с исходным количеством биоматериала до 25 мкл достаточно инкубировать в течение 3–5 минут. При использовании большего количества биоматериала (25–50 мкл) время инкубации может быть увеличено до 10 минут.

▶ 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.

2.12. Добавьте в пробирку необходимое количество воды или элюирующего раствора: 1–2 объема исходного объема биоматериала (от 5 до 100 мкл).

▶ 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.

2.13. Хорошо перемешайте осадок пипетированием до гомогенного состояния суспензии. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 2–3 минут.

2.14. Поместите пробирку в магнитный штатив и инкубируйте в течение 2–5 минут, пока раствор не станет прозрачным.

▶ Не переходите к следующему этапу, пока раствор остается мутным.

2.15. 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 энзиматические реакции. Если магнитные частицы попали в элюат, центрифугируйте пробирку с элюатом при максимальном ускорении (от 7 000 g) в течение 3 минут при комнатной температуре в настольной центрифуге.

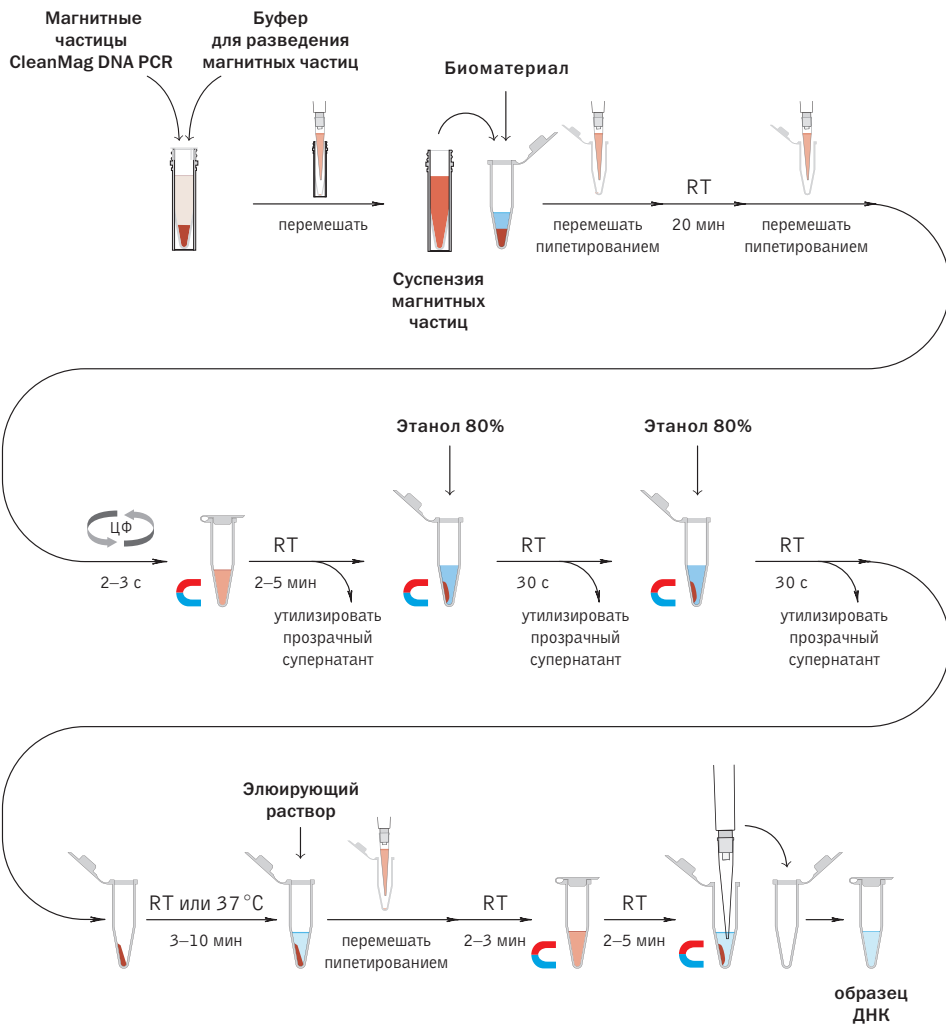


Рисунок 1 – схема очистки ДНК с помощью CleanMag DNA PCR.

ДЛЯ ЗАМЕТОК

Наборы и сервисы Евроген

Н >>> – ссылка на страницу НАБОРА

Выделение и очистка нуклеиновых кислот **Н** >>>

С >>> – ссылка на страницу СЕРВИСА

Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ **Н** >>>

Синтез и амплификация кДНК **Н** >>> **С** >>>

Клонирование ДНК **Н** >>> **С** >>>

Выявление контаминации микоплазмой **Н** >>>

Оценка ДНК **Н** >>>

Нормализация кДНК **Н** >>> **С** >>>

Практикум по геной инженерии **Н** >>>

Генотипирование **Н** >>>

Синтез олигонуклеотидов и зондов **С** >>>

Секвенирование по Сэнгеру **С** >>>

Синтез генов **С** >>>

Сайт-направленный мутагенез **С** >>>

Консультация по продуктам: support@evrogen.ru

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

ЗАО Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15
Тел.: +7 (495) 784-7084
order@evrogen.ru
www.evrogen.ru