

# Набор Plasmid Miniprep

Кат. ## BC021S, BC021L

Версия 05 от 22 марта 2022 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 стекловолокнистыми 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-колонки Standard микроцентрифужные	50 шт.	250 шт. (5 x 50 шт.)
Собирательные пробирки	50 шт.	250 шт. (5 x 50 шт.)
РНКаза А (лиофилизированная)	1.5 мг	7.5 мг
Ресуспенсирующий раствор	14 мл	70 мл
Лизирующий раствор	14 мл	70 мл
Нейтрализующий раствор	19 мл	95 мл
Промывочный раствор	20 мл	50 мл
Элюирующий раствор	3 мл (2 x 1.5 мл)	15 мл
Раствор для удаления эндотоксинов	11 мл	55 мл

**Хранение и транспортировка:** при комнатной температуре.

Приготовленную смесь «Ресуспенсирующего раствора» и «РНКаза А» хранить при +4 °С.

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

## 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 — 90 мл;  
BC021L — 220 мл.  
Рекомендуется нанести пометку о выполнении операции на крышку флакона.
- Добавьте к лиофилизированной «РНКазе А» небольшой объем (примерно 1 мл) «Ресуспендирующего раствора». Перенесите полученный раствор «РНКаза А» во флакон с «Ресуспендирующим 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 1 700 g. Полностью удалите супернатант.
3. Добавьте 250 мкл «Ресуспендирующего раствора» к осадку и тщательно ресуспендируйте.
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.**



## Наборы и сервисы Евроген



 – ссылка на страницу НАБОРА


 – ссылка на страницу СЕРВИСА


Выделение и очистка нуклеиновых кислот 



Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ 


Синтез и амплификация кДНК  

Клонирование ДНК  

Выявление контаминации микоплазмой 


Оценка ДНК 

Нормализация кДНК  

Практикум по генной инженерии 

Генотипирование 

Синтез олигонуклеотидов и зондов 

Секвенирование по Сэнгеру 

NGS секвенирование 

Синтез генов 

Сайт-направленный мутагенез 

Консультация по продуктам: [support@evrogen.ru](mailto:support@evrogen.ru)

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

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