

# Plasmid Miniprep Color

Набор для выделения плазмидной ДНК

Номер по каталогу: BC121S

Инструкция по применению

## Оглавление

1. Назначение .....	2
2. Преимущества набора .....	2
3. Состав набора .....	2
4. Хранение и транспортировка .....	2
5. Количество реакций .....	2
6. Принцип метода.....	3
7. Основные характеристики .....	3
8. Меры предосторожности .....	3
9. Необходимое оборудование и дополнительные материалы.....	4
10. Биологический материал.....	4
11. Протокол .....	4

## 1. Назначение

Набор предназначен для быстрого выделения плазмидной ДНК высокой степени очистки из культуры клеток *E. coli*.

Выделенная ДНК пригодна для ПЦР, секвенирования, рестрикции, трансформации, трансфекции и других молекулярно-биологических приложений.

**Только для использования в научно-исследовательских целях.**

## 2. Преимущества набора

Окрашенные растворы позволяют легко контролировать правильность выполнения протокола, полноту лизиса клеток и эффективность нейтрализации лизата.

## 3. Состав набора

Название компонента	Объем/количество
РНКаза А (лиофилизированная)	1.5 мг
Ресуспенсирующий раствор Color	14 мл
Лизирующий раствор Color	14 мл
Нейтрализующий раствор Color	19 мл
Промывочный раствор (концентрат)	20 мл
Элюирующий раствор	3 мл (2 x 1.5 мл)
Спин-колонки с крышкой в комплекте с собирательными пробирками	50 шт.

## 4. Условия хранения и транспортировки

Все компоненты набора хранятся и транспортируются при комнатной температуре в сухом, защищенном от света месте в упаковке производителя. «Ресуспенсирующий раствор Color» после добавления «РНказы А» хранить при +4 °С.

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

## 5. Количество реакций

Набор рассчитан на 50 реакций.

## 6. Принцип метода

На стадии лизиса в щелочных условиях происходит разрушение клеточных стенок бактерий, денатурация белков и геномной ДНК. Добавление «Нейтрализующего раствора Color» приводит к образованию творожистой взвеси ярко-желтого цвета, состоящей из белков и геномной ДНК, в то время как короткая плазмидная ДНК остается в растворе. В присутствии хаотропных солей плазмидная ДНК сорбируется на мембране колонки, тогда как примеси различной природы удаляются в процессе промывки. На последней стадии происходит элюция очищенной плазмидной ДНК с мембраны.

## 7. Основные характеристики

Характеристика	Значение
Выход ДНК	Выход высококопийной плазмиды pAtlas из 2 мл ночной культуры – до 20 мкг*
Объем выделенного образца	50 мкл
Емкость колонок	До 20 мкг
Чистота ДНК	$A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ $A_{260}/A_{230} \geq 1.8$

\*Выход плазмидной ДНК зависит от количества копий плазмиды, условий культивирования и выбранного штамма *E. coli*.

## 8. Меры предосторожности

Компоненты набора «Лизирующий раствор Color» и «Нейтрализующий раствор Color» содержат вещества, требующие обеспечения специальных мер безопасности:

- Хранить в плотно закрытой таре.
- Не допускать проглатывания, попадания на слизистые и кожу.
- При попадании компонентов набора на кожу или слизистые оболочки место контакта следует промыть большим количеством воды.
- При работе необходимо использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами.

## 9. Необходимое оборудование и дополнительные материалы

### Необходимое оборудование

- Настольная центрифуга для пробирок с ускорением от 11 000 g.
- Термостат.
- Миницентрифуга-вортекс.
- Автоматические дозаторы на 20, 200 и 1 000 мкл.

### Дополнительные материалы

- Микроцентрифужные пробирки объемом 1.5 мл и 2 мл.
- Наконечники для дозатора с фильтрами.
- Этанол 96%.

## 10. Биологический материал

2 мл ночной культуры клеток *E. coli*.

## 11. ПРОТОКОЛ

Общее время работы 20 минут.

### 11.1. Подготовка растворов

- 1.1. Добавьте 90 мл этанола (96%) к «Промывочному раствору». Перемешайте переворачиванием и поставьте отметку на крышке флакона.
- 1.2. Добавьте к лиофилизированной «РНКазе А» примерно 1 мл «Ресуспенсирующего раствора Color». Перенесите полученный раствор «РНКазы А» во флакон с «Ресуспенсирующим раствором Color». Перемешайте переворачиванием и поставьте отметку на крышке флакона.

### 11.2. Выделение ДНК

- 2.1. Если в «Нейтрализующем растворе Color» образовался осадок, прогрейте его при температуре от +37 до +50 °С до полного растворения осадка.
- 2.2. Подготовьте и промаркируйте пробирки объемом 2 мл по числу образцов.
- 2.3. Перенесите 2 мл бактериальной культуры в промаркированную пробирку.
- 2.4. Осадите клетки центрифугированием (не более 1 700 g) в течение 1 минуты. Полностью удалите супернатант.

- 2.5. Добавьте 250 мкл «Ресуспандирующего раствора Color» к осадку и тщательно перемешайте на вортексе до образования мутной суспензии бледно-розового цвета.
- 2.6. Добавьте 250 мкл «Лизирующего раствора Color». Содержимое пробирки осторожно перемешайте переворачиванием, пока лизат не приобретет фиолетовый цвет и не станет прозрачным. Инкубируйте при комнатной температуре не более 1 минуты.
- ▶ *Не используйте вортекс: быстрое перемешивание приводит к разрыву бактериальной хромосомы и загрязнению плазмиды геномной ДНК.*
- 2.7. Добавьте 350 мкл «Нейтрализующего раствора Color». Осторожно перемешайте переворачиванием содержимое пробирки до образования творожистой взвеси ярко-желтого цвета. Инкубируйте при комнатной температуре 1 минуту.
- ▶ *Не используйте вортекс.*
- 2.8. Центрифугируйте пробирку в течение 10 минут с ускорением 11 000 g.
- ВНИМАНИЕ!** Это и последующие центрифугирования проводятся при 11 000 g (13 000 об/мин для настольной центрифуги Eppendorf Minispin) при комнатной температуре.
- 2.9. Подготовьте и промаркируйте спин-колонки с собирательными пробирками по числу образцов.
- 2.10. Перенесите осветленный супернатант в колонку. Центрифугируйте в течение 30 с.
- 2.11. Удалите фильтрат из собирательной пробирки. Колонку верните в собирательную пробирку.
- 2.12. Добавьте 700 мкл «Промывочного раствора» в колонку. Центрифугируйте в течение 30 с.
- 2.13. Удалите фильтрат из собирательной пробирки. Колонку верните в собирательную пробирку.
- 2.14. Центрифугируйте пустую колонку 1 минуту для полного удаления «Промывочного раствора».
- 2.15. Подготовьте и промаркируйте пробирки объемом 1.5 мл по числу образцов.
- 2.16. Собирательную пробирку утилизируйте. Поместите колонку в новую промаркированную пробирку.
- 2.17. Нанесите в центр мембраны 50 мкл «Элюирующего раствора». Инкубируйте при комнатной температуре 1 минуту. Центрифугируйте в течение 30 с. Элюат содержит очищенную ДНК.
- Выделенную ДНК хранить при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  до 1 года.

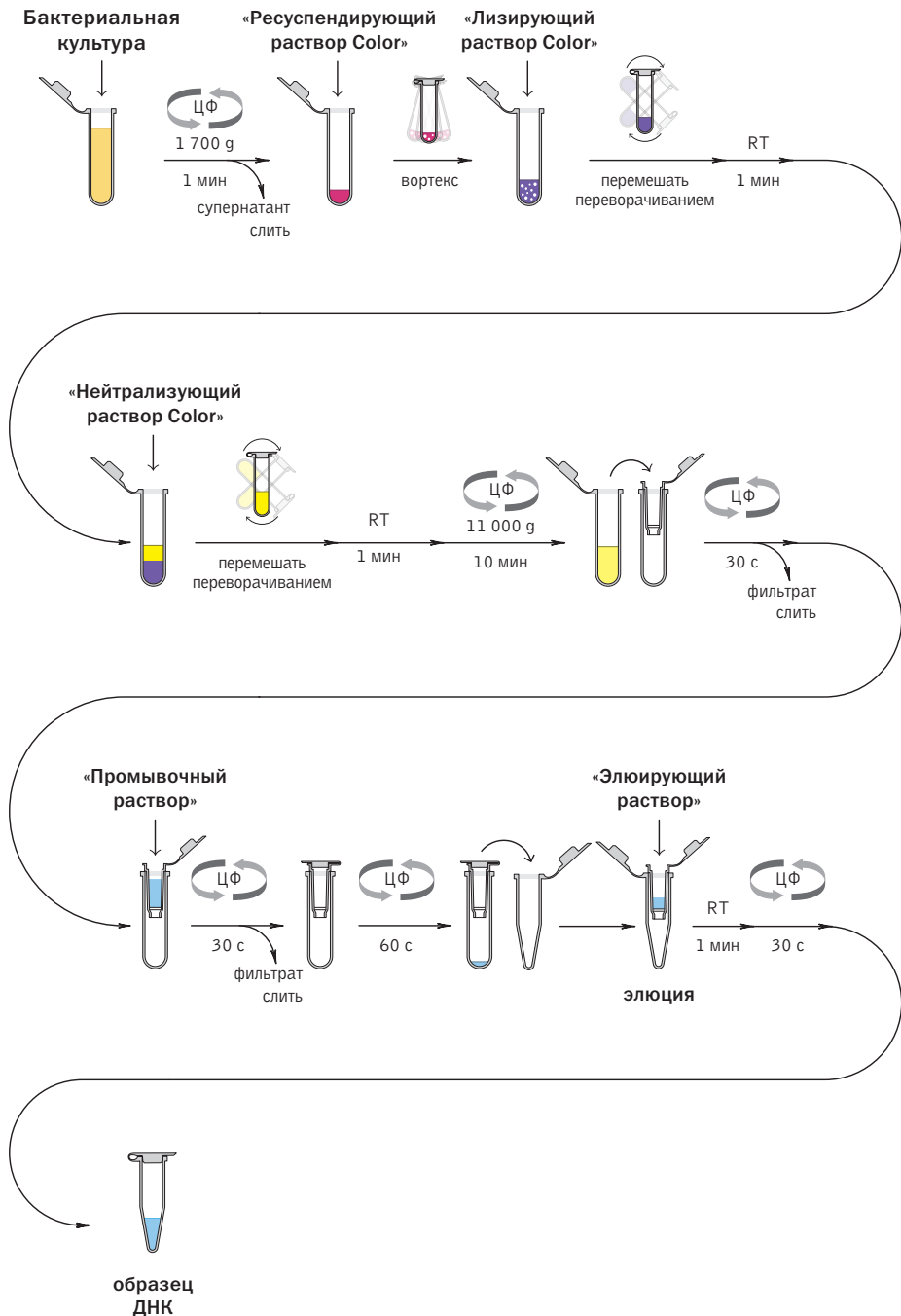


Рисунок 1 – схема выделения ДНК

## Наборы и сервисы Евроген

**Н** – наборы

**С** – сервисы

Выделение и очистка нуклеиновых кислот **Н**

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 генной инженерии **Н**

Генотипирование **Н**

Синтез олигонуклеотидов и зондов **С**

Секвенирование по Сэнгеру **С**

NGS секвенирование **С**

Синтез генов **С**

Сайт-направленный мутагенез **С**

Синтез органических соединений **С**

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

**Подробную информацию о наших продуктах 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)