

# Cleanup St Gel

Набор для очистки ДНК из агарозного геля

Номера по каталогу:

BC027S — на 50 реакций

BC027L — на 250 реакций

Инструкция по применению

## Оглавление

|  |   |
|--|---|
| 1. Назначение .....  | 4 |
| 2. Преимущества .....  | 4 |
| 3. Состав .....  | 4 |
| 4. Условия хранения и транспортировки .....                  | 4 |
| 5. Метод .....   | 5 |
| 6. Основные характеристики .....                             | 5 |
| 7. Необходимое оборудование и дополнительные материалы ..... | 5 |
| 8. Биологический материал .....                              | 5 |
| 9. Протокол .....  | 6 |
| 10. Возможные проблемы и способы их решения .....            | 9 |

## 1. Назначение

Набор предназначен для очистки фрагментов двухцепочечной ДНК из агарозного геля. Очищенная ДНК пригодна для ПЦР, секвенирования, рестрикции, лигирования и других молекулярно-биологических приложений.

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

## 2. Преимущества

- Очистка от минерального масла и примесей: нуклеотидов, праймеров, коротких фрагментов нуклеиновых кислот, солей, белков, ингибиторов ферментативных реакций и др.
- В состав набора входят собирательные пробирки без крышек и колонки с крышками, что позволяет уменьшить уровень загрязнения рабочего пространства и снизить вероятность кросс-контаминации образцов.

## 3. Состав

| Компоненты набора   | BC027S<br>50 реакций | BC027L<br>250 реакций |
|---|----------------------|-----------------------|
| Спин-колонки SCG с крышками в комплекте с собирательными пробирками | 50 шт.               | 250 шт. (5 x 50 шт.)  |
| Связывающий раствор S   | 40 мл                | 240 мл                |
| Промывочный раствор (концентрат)                                    | 20 мл                | 100 мл (2 x 50 мл)    |
| Элюирующий раствор  | 3 мл (2 x 1.5 мл)    | 15 мл                 |

## 4. Условия хранения и транспортировки

**Хранение и транспортировка:** при комнатной температуре в сухом, защищенном от света месте в упаковке производителя.

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

## 5. Метод

Связывание ДНК на мембране колонки происходит в присутствии высококонцентрированных хаотропных веществ в условиях оптимально выбранного pH. Последующее использование промывочного буфера позволяет избавиться от агарозы, белков, ингибиторов ферментативных реакций и примесей органических соединений. Элюция ДНК происходит в слабощелочных условиях низкосолевым буфером.

## 6. Основные характеристики

| Характеристика                        | Значение             |
|---------------------------------------|----------------------|
| Емкость                               | До 20 мкг            |
| Размер фрагментов очищенной ДНК       | 50–10 000 п.о.       |
| Объем очищенного образца ДНК (элюата) | 50 мкл               |
| Выход ДНК                             | До 70%*              |
| Чистота ДНК                           | A260/A280 $\geq$ 1.8 |

\* Выход зависит от длины ДНК (чем длиннее ДНК, тем выше эффективность), от % агарозы в геле (чем ниже %, тем выше эффективность) и от массы фрагмента геля (чем меньше масса, тем выше эффективность).

## 7. Необходимое оборудование и дополнительные материалы

- Твердотельный термостат.
- Настольная центрифуга для пробирок с ускорением от 11 000 g.
- Вортекс.
- Мини-центрифуга.
- Автоматические дозаторы на 20, 200 и 1 000 мкл.
- Микроцентрифужные пробирки объемом 1.5 или 2 мл.
- Наконечники для дозаторов с фильтрами.
- Этанол 96%.

## 8. Биологический материал

Фрагмент ДНК в агарозном геле: концентрация агарозы не более 2%, масса геля не более 200 мг. Объемы растворов в наборе рассчитаны на средний вес фрагментов геля 150 мг.

## 9. Протокол

Общее время работы: 30 минут.

### 9.1. Подготовка растворов

1.1. Добавьте этиловый спирт (96%) во флакон с концентрированным «Промывочным раствором» в количестве:

BC027S — 90 мл,

BC027L — 220 мл в каждый флакон.

Тщательно перемешайте раствор переворачиванием, нанесите пометку о выполнении операции на крышку флакона.

- ▶ При редком использовании набора не рекомендуется добавлять этанол в весь объем концентрата «Промывочного раствора». Непосредственно перед использованием отберите аликвоту концентрата в чистый флакон (260 мкл на 1 образец) и добавьте в него этанол (1 170 мкл на 1 образец). Тщательно перемешайте раствор переворачиванием.
- ▶ Внимательно следите за количеством израсходованного концентрата «Промывочного раствора», например, делайте отметки на флаконе и в конце инструкции на странице «Для заметок». Если вам понадобится добавить этанол ко всему оставшемуся объему концентрата «Промывочного раствора», то необходимое количество этанола следует рассчитать по формуле:

$$VE = (VW_{исх} - VW_{расх}) \times \frac{VE_{исх}}{VW_{исх}} \text{ (мл)},$$

где  $VE$  — объем этанола, который нужно добавить,  $VW_{исх}$  — объем концентрата «Промывочного раствора», указанный на этикетке,  $VW_{расх}$  — израсходованное количество концентрата «Промывочного раствора»,  $VE_{исх}$  — объем этанола по инструкции, см. п.1.1.

1.2. Проверьте флакон со «Связывающим раствором S» на наличие осадка. При обнаружении осадка прогрейте флакон при температуре от +37 до +50 °C до полного растворения осадка.

### 9.2. Подготовка биоматериала

2.1. Подготовьте и взвесьте фрагмент геля, содержащий ДНК. Поместите его в пробирку.

- ▶ Допускается приравнивать массу фрагмента геля к его объему:  
100 мг = 100 мкл.

2.2. В пробирку с гелем добавьте 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.

2.3. Инкубируйте смесь при температуре 55 °С до полного растворения геля. Для ускорения растворения рекомендуется перемешивать раствор встряхиванием пробирки.

2.4. Перейдите к п. 9.3 «Проведение протокола».

### 9.3. Проведение протокола

#### **ВНИМАНИЕ!**

Все центрифугирования проводятся при 11 000 g (13 000 об/мин для настольной центрифуги Eppendorf Minispin) при комнатной температуре.

3.1. Подготовьте и промаркируйте колонки с собирательными пробирками по числу образцов.

3.2. Полностью перенесите образец, подготовленный согласно пункту 9.2, в колонку и центрифугируйте 30 секунд. Удалите 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.

3.3. Добавьте в колонку 700 мкл разбавленного «Промывочного раствора», центрифугируйте 30 с. Удалите фильтрат из собирательной пробирки.

3.4. Повторите п. 3.3.

3.5. Центрифугируйте пустую колонку 2 минуты для полного удаления промывочного раствора.

3.6. Перенесите колонку в новую пробирку объемом 1.5 или 2.0 мл.

3.7. Оставьте колонку с открытой крышкой при комнатной температуре на 5 мин для полного испарения остатка спирта.

3.8. Не касаясь наконечником мембраны колонки, нанесите в ее центр 50 мкл «Элюирующего раствора».

► Для получения высококонцентрированного образца объем «Элюирующего раствора» следует уменьшить до 30 мкл.

3.9. Инкубируйте при комнатной температуре 1 минуту. Для длинных фрагментов (более 1 000 п.о.) рекомендуется увеличить время инкубации от 1 до 5 минут.

3.10. Центрифугируйте 1 минуту для сбора очищенной ДНК.

Очищенная ДНК хранится при температуре –20 °С до 1 года.

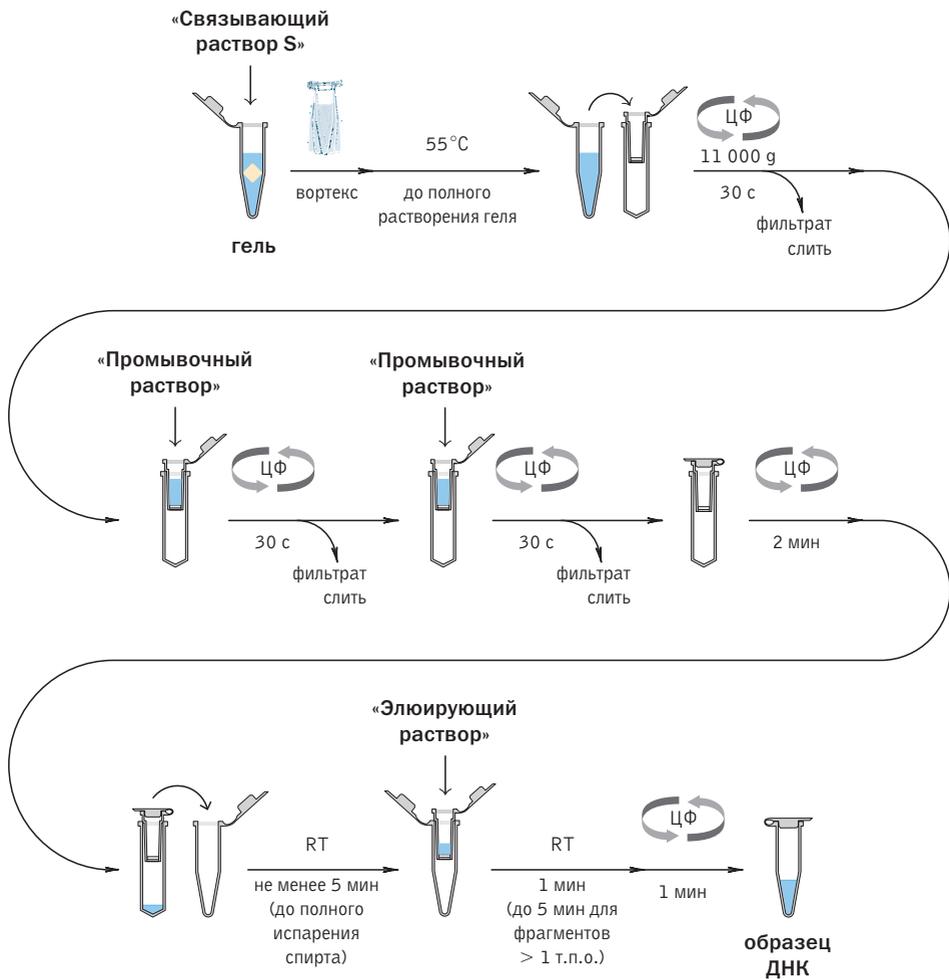


Рисунок 1 — схема очистки ДНК.

## 10. Возможные проблемы и способы их решения

| Возможные проблемы | Причины и способы решения   |
|--------------------|---|
| Низкий выход ДНК.  | <ol style="list-style-type: none"><li data-bbox="428 201 1025 225">1. Неверно рассчитан объем связывающего буфера.</li><li data-bbox="428 233 1025 280">2. Не полностью расплавилась агароза и фрагменты геля забили мембрану колонки.</li><li data-bbox="428 288 1025 384">3. Не был добавлен спирт в промывочный буфер. Проверьте плотность закрытия крышки флакона с промывочным раствором, правильность подготовки растворов и выполнения протокола.</li><li data-bbox="428 392 1025 464">4. Элюирующий буфер был нанесен не в центр мембраны колонки и, возможно, попал на стенки пробирки. Проверьте правильность выполнения протокола.</li></ol> |

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 генной 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](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)