

## Информация о продукте

### Набор для выделения ДНК из реакционных смесей (DR-10, DR-50, DR-250)

#### Описание продукта

Набор предназначен для очистки ДНК (от 50 до 10000 пар оснований) из ферментативных реакций, например, от dNTP, ферментов, не включившихся низкомолекулярных радиоактивных и флуоресцентных меток и др. Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот на кремниевой мембране, последующей промывке и элюции очищенного продукта. Возможна очистка до 10-20 мкг ДНК.

Выделенная ДНК может быть использована для ПЦР, ник-трансляции и других генно-инженерных приложений.

Набор не содержит фенола и хаотропных солей, таких как гуанидин тиоцианат и др.

#### Состав набора

	DR-10 10 выделений	DR-50 50 выделений	DR-250 250 выделений
Буфер для нанесения на колонку PB	5.4	27 мл	2x67.5 мл
Буфер для промывки WB (концентрат)	1.5	7.5 мл	2x19 мл
Буфер для элюции EB	2x1.5 мл	2x5 мл	50 мл
Пробирки для сбора фильтрата с колонками для сорбции образца	10 шт	50 шт	250 шт

#### Условия хранения

Набор для выделения ДНК из реакционных смесей может храниться при комнатной температуре (15-25 °С) в течение 12 месяцев. При хранении при 2-8 °С в буфере PB

возможно образование осадка, в таком случае необходимо выдержать буфер некоторое время при комнатной температуре (15-25 °С) до полного растворения осадка.

### **Материалы и оборудование необходимые для работы**

Центрифуга способная достигать скорости не менее 12000-14000 гcf

Полипропиленовые микроцентрифужные пробирки на 1.5-2 мл

Этанол, 96-100% раствор

### **Перед началом работы:**

Добавить 96-99% этанол к буферу WB и перемешать.

10 выделений. К 1.5 мл буфера WB (концентрат) добавить 4 мл этанола, чтобы получить 5.5 мл буфера WB.

50 выделений. К 7.5 мл буфера WB (концентрат) добавить 20 мл этанола, чтобы получить 27.5 мл буфера WB.

250 выделений. К 19 мл буфера WB (концентрат) добавить 50 мл этанола, чтобы получить 69 мл буфера WB.

Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте буфера WB, поскольку со временем этанол может испариться.

### **Протокол выделения ДНК.**

**1.** К аликвоте образца добавить пятикратный избыток буфера для нанесения на колонку PV и такой же объем 96-99% этанола. Например, к 20 мкл образца добавить 100 мкл буфера для нанесения на колонку PV и 100 мкл 96-100% этанола.

**2.** Перемешать смесь и сразу нанести на колонку. Центрифугировать 30 с, 10000-14000 гcf. Удалить фильтрат.

**Примечание:** Объем колонки 700 мкл. Если объем образца больше 700 мкл, повторить центрифугирования для остальных аликвот на той же колонке.

**3.** Нанести на колонку 700 мкл буфера для промывки WB. Центрифугировать 30 с, 10000-14000 гcf. Удалить фильтрат.

4. Центрифугировать колонку 3 мин, 10000-14000 rcf для полного удаления буфера WB.
5. Перенести колонку в новую микроцентрифужную пробирку (не входит в состав набора) на 1.5-2 мл.
6. Нанести на центр фильтра колонки 30-100 мкл буфера для элюции EB. Инкубировать 3-5 мин при комнатной температуре (20-25 °C). Центрифугировать 2 мин, 10000-14000 rcf.

**Примечание:** Для увеличения выхода ДНК повторно провести элюцию. Для получения более концентрированного раствора ДНК нанести элюат на колонку и повторить центрифугирование. В другом случае можно провести элюцию новой порцией буфера EB. Последующие стадии элюции незначительно увеличивают выход ДНК.

Буфер для элюции содержит 0.01 М Tris•HCl (pH 8.0). Элюировать образец также можно TE буфером (pH 8.0-8.5) либо водой.

7. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20 - -25 °C.

### **Анализ выделенной ДНК.**

ДНК можно проанализировать с помощью гель-электрофореза в агарозном или полиакриламидном геле.

Количество выделенной ДНК можно оценить с помощью УФ-спектрометрии.

Характерный максимум поглощения для ДНК при  $\lambda = 260$  нм.

Посчитать концентрацию ДНК (мкг/мл) можно по следующей формуле:

$A_{260} \cdot \text{разбавление} \cdot 50$  мкг/мл.

Характерные соотношения оптической плотности  $A_{260}/A_{280} \sim 1.7-2.0$ ,  $A_{260}/230 \geq 1.9$ .