



Общество с ограниченной ответственностью  
«Биолабмикс»  
ИНН 5408278957 КПП 540801001  
630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,  
ул. Инженерная, дом № 28  
Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40  
E-mail: sales@biolabmix.ru

## **Набор Mini для выделения плазмидной ДНК из бактериальных клеток**

Кат. номер Plasmid-10-mini, Plasmid-50-mini, Plasmid-250-mini

### **Важно!**

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с реагентом, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с продуктом. Последняя версия протокола доступна на сайте компании ООО «Биолабмикс» ([www.biolabmix.ru](http://www.biolabmix.ru)).

Набор предназначен только для научно-исследовательских целей.

Протокол обновлён 25.04.2024.

### **Описание**

Набор предназначен для выделения и очистки плазмидной ДНК из культур бактериальных клеток *E. coli*. Для выделения ДНК возможно использовать до 5 мл суспензии клеток (в зависимости от копийности и длины плазмиды).

Протокол состоит из двух основных этапов: щелочной лизис бактериальных клеток и последующая сорбция плазмидной ДНК на центрифужной колонке, промывка и элюция очищенного продукта. Ёмкость колонки до 30 мкг. Буфер для лизиса содержит pH-индикатор синего цвета, для лучшего контроля на этапе нейтрализации. После этапа нейтрализации цвет смеси становится прозрачным.

Выделенная ДНК может быть использована для ПЦР, рестрикции, секвенирования, трансформации, трансфекции и других приложений.

## Состав набора

	Plasmid-10 mini 10 выделений	Plasmid-50 mini 50 выделений	Plasmid-250 mini 250 выделений	
			Вариант 1	Вариант 2
Буфер для суспендирования SB	3 мл	15 мл	2x50 мл	100 мл
Буфер для лизиса LB (содержит pH-индикатор)	3 мл	15 мл	5x15 мл	5x15 мл
Буфер для нейтрализации NB	3 мл	15 мл	2x50 мл	100 мл
Буфер для промывки WB1	5.5 мл	30 мл	3x50 мл	2x75 мл
Буфер для промывки WB2 (концентрат)	1.1 мл	6 мл	3x10 мл	2x15 мл
Буфер для элюции EB	5 мл	15 мл	60 мл	60 мл
РНКаза А, 10 мг/мл	25 мкл	115 мкл	550 мкл	550 мкл
Пробирики для сбора фильтрата с колонками для сорбции образца	10 шт.	50 шт.	250 шт.	250 шт.

Набор Plasmid-250-mini поставляется в одном из двух вариантов

### Меры предосторожности

**Осторожно!** Буферы для лизиса LB, нейтрализации NB и промывки WB1 содержат вещества, оказывающие раздражающее и токсичное действие. При работе необходимо соблюдать правила общей и личной техники безопасности. Токсичен при попадании на кожу и внутрь. Вызывает ожоги.

**Осторожно!** Буфер для промывки WB1 содержит изопропанол, оказывающий раздражающее и токсичное действие. Не проводить работы с раствором в непосредственной близости от открытого огня.

При попадании на кожу промойте немедленно большим количеством воды и моющего средства (детергента). При необходимости обратитесь за медицинской помощью.

### Эксплуатация

Компоненты: SB, LB, NB, WB1, WB2, EB, РНКаза А стабильны в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения (см. на упаковке) и достаточной герметизации флаконов.

**Внимание!** Не нагревать набор выше температуры +25°C, несоблюдение температурного режима хранения и транспортировки снижает активность РНКазы А и эффективность выделения.

### Условия работы

Температура окружающей среды от +15 до +25°C;

Относительная влажность воздуха не более 80 %;

Атмосферное давление 630 – 800 мм. рт. ст.

## **Оборудование и материалы, не входящие в набор**

- Центрифуга для микропробирок на 1.5–2 мл, скорость 12000 гсf;
- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5 мл;
- Этанол, 96–99% раствор.

### **Перед началом работы:**

#### **Подготовка буфера WB2.**

##### **- 1 выделение, 500 мкл WB2.**

К 100 мкл буфера WB2 (концентрат) добавить 400 мкл этанола.

- **10 выделений.** К 1.1 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 4.4 мл этанола, чтобы получить 5.5 мл буфера WB2.

- **50 выделений.** К 6 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 24 мл этанола, чтобы получить 30 мл буфера WB2.

- **250 выделений. Вариант 1.** К 10 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 40 мл этанола, чтобы получить 50 мл буфера WB2.

- **250 выделений. Вариант 2.** К 15 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 60 мл этанола, чтобы получить 75 мл буфера WB2.

Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте буфера WB2, поскольку при хранении буфера с этанолом в течение нескольких месяцев этанол может частично испариться.

## Протокол выделения плазмидной ДНК

Для выделения плазмидной ДНК использовать 1–5 мл суспензии бактериальных клеток (количество зависит от копийности и длины плазмиды).

Все процедуры проводить при 15–25°C.

### 1) Подготовка и лизис образцов.

1. Осадить бактериальные клетки из культуральной среды центрифугированием, 1 мин, 12000 *rcf* либо использовать принятый в лаборатории протокол для осаждения бактериальных клеток. Удалить супернатант.
2. К осадку клеток добавить 250 мкл буфера SB. Ресуспендировать осадок пипетированием.
3. К суспензии клеток добавить 2 мкл РНКазы А (10 мг/мл) и 250 мкл буфера для лизиса LB. Аккуратно перемешать вручную, переворачивая пробирку 5–10 раз до получения однородной смеси. Не использовать вортекс!

**Важно!** Закрыть бутыл, содержащую буфер LB, сразу после использования, чтобы избежать подкисления при попадании CO<sub>2</sub> из воздуха.

**Примечание:** Буфер для лизиса LB содержит рН-индикатор синего цвета.

4. Инкубировать полученную смесь не более 3 мин.
5. Добавить 250 мкл буфера для нейтрализации NB. Аккуратно перемешать вручную, переворачивая пробирку 5–10 раз до получения однородной смеси. Инкубировать 5 минут.

**Примечание:** не использовать вортекс!

**Примечание:** перемешать суспензию сразу после добавления буфера NB, чтобы избежать образования крупных частиц. Перемешивать суспензию до полного исчезновения частиц синего цвета.

6. Центрифугировать 15 мин, 12000 *rcf*.

### 2) Нанесение на колонку.

Супернатант нанести на колонку. Центрифугировать 30 с, 12000 *rcf*. Удалить фильтрат.

**Примечание:** если не все частицы осели на дно после центрифугирования, аккуратно переносить супернатант на колонку, избегая захвата осадка.

### 3) Промывка колонки.

1. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB1. Центрифугировать 30 с, 12000 *rcf*. Удалить фильтрат.
2. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB2. Центрифугировать 30 с, 12000 *rcf*. Удалить фильтрат.

**Примечание:** не забудьте предварительно добавить к буферу WB2 этанол.

3. Центрифугировать колонку 3 мин, 12000 *rcf* для полного удаления буфера WB2.

#### 4) Элюция ДНК.

1. Перенести колонку в новую микропробирку на 1.5–2 мл (не входит в состав набора). Плотно прижать колонку к пробирке.
2. Нанести на центр фильтра колонки от 60 до 200 мкл буфера для элюции EB. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15–25°C). Центрифугировать 1 мин, 10000 gcf.
  - **Важно!** Рекомендуемый объём элюции 100 мкл. При элюции меньшим объёмом требуется аккуратно наносить аликвоту буфера на центр фильтра колонки, иначе возможно снижение выхода ДНК.
  - При элюции в 100–200 мкл выход ДНК выше на 10–30%, чем при элюции в 60 мкл.
  - Повторная элюция новой аликвотой буфера для элюции EB или элюатом позволяет увеличить выход ДНК на 10–30%. При элюции объёмом менее 100 мкл рекомендуется использовать новую аликвоту буфера для элюции. При элюции объёмом 100 мкл и более допускается повторно нанести элюат на колонку.
  - Буфер для элюции – 0.01 M Tris·HCl (pH 8.0). Элюировать образец также можно TE буфером (0.01 M Tris–HCl, 0.001 M EDTA, pH 8.0–8.5) либо водой (pH 8.0–8.5, pH доводить раствором NaOH).
3. Элюат, содержащий ДНК, хранить при –20°C. Для длительного хранения рекомендуется добавить EDTA (pH 8) до конечной концентрации 0.1–1 мМ.

**Примечание:** EDTA может ингибировать ферментативные реакции, например, ПЦР.

## **Анализ выделенной ДНК**

Целостность выделенной ДНК можно проверить с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном 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  $A_{260}/A_{280} \sim 1.7-2.0$ .

## **Дополнительные реагенты:**

В каталоге ООО «Биолабмикс» представлены реагенты для проведения агарозного гель-электрофореза.

- Буферы для электрофореза в агарозном геле: трис-ацетатный буфер (Кат. № BE-DNA-500, BE-DNA-1000), трис-боратный буфер (Кат. № TBE-500).
- Раствор бромистого этидия (Кат. № EtBr-10) для визуализации НК.
- Буферы для внесения образцов ДНК и РНК в гель (Кат. № D-3001, D-3002, D-3003).
- РНКазы А (Кат. № ER-500).

## **Условия хранения:**

Набор для выделения ДНК хранить при температуре от +15 до +25 °С. Раствор РНКазы А хранить при температуре от -18 до -24 °С. Срок годности см. на упаковке.

**Важно!** Закрывать бутылку, содержащую буфер LB, сразу после использования, чтобы избежать подкисления при попадании  $\text{CO}_2$  из воздуха.

## **Условия транспортировки:**

Транспортировку набора, производить при температуре от +15 до +25 °С. Допускается транспортирование при температуре не выше +25 °С в течение 14 суток.

## Продукция компании Биолабмикс

Наборы для  
выделения  
ДНК/РНК



Наборы и смеси  
для ПЦР



ОТ и ОТ-ПЦР



Изотермическая  
амплификация



ДНК-маркеры



Ферменты



Олиго-  
нуклеотиды



Платформа  
для синтеза  
мРНК



Маркеры  
молекулярной  
массы белков



Host cell  
DNA detection



Контрактное  
производство

Собственные  
разработки

[sales@biolabmix.ru](mailto:sales@biolabmix.ru)  
8 800 600 88 76

[www.biolabmix.ru](http://www.biolabmix.ru)



9001:2015  
13485:2016



ПОДПИСЫВАЙТЕСЬ  
НА НАШУ ГРУППУ В ВК