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).
Набор предназначен только для научно-исследовательских целей.
Протокол обновлён 06.06.2025.

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. Выход плазмидной ДНК может достигать 5-50 мкг и зависит от линии клеток, копийности и длины плазмиды.
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
Пробирки 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 rcf;
- 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^{0}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 бутыль, содержащую буфер LB, сразу после использования, чтобы избежать подкисления при попадании CO_2 из воздуха.
Примечание: Буфер для лизиса LB содержит pH-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.

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. Инкубировать 5 минут.
7. 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^{0}C). Центрифугировать 1 мин, 10000 rcf.
   - **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 из можно оценить с помощью УФ-спектрометрии.
Характерный максимум поглощения для ДНК при λ = 260 нм.
Посчитать концентрацию ДНК (мкг/мл) можно по следующей формуле:
A_{260} * разбавление * 50 мкг/мл.
Характерные соотношения оптической плотности A_{260}/A_{280} ~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).
- РНКаза 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! Закрыть бутыль, содержащую буфер LB, сразу после использования, чтобы избежать подкисления при попадании 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
8 800 600 88 76
www.biolabmix.ru

ISO 9001:2015
13485:2016

ПОДПИСЫВАЙТЕСЬ
НА НАШУ ГРУППУ В ВК