

Очистка ДНК и РНК после ферментативных реакций

Кат. номер: K0900

Назначение набора: очистка нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) после проведения ферментативных реакций

Условия хранения: +4°C

Условия транспортировки: особых условий не требуется

Состав набора

Набор содержит количество реагентов, достаточное для проведения 50 процедур выделения.

Компонент набора

Связывающий буфер	5 мл
Магнитные частицы SileksMagNA	0.5 мл
Промывочный буфер 1	5 мл
Промывочный буфер 2	5 мл
Буфер для элюции	2 мл

Описание

Данный набор мы рекомендуем в первую очередь для очистки продуктов, полученных в ходе полимеразной цепной реакции (ПЦР).

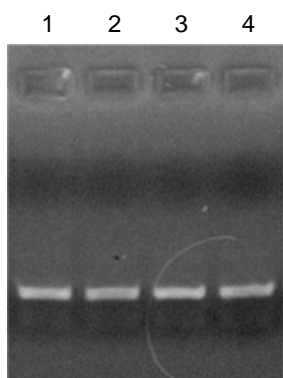
В процессе очистки набором продукты ПЦР освобождаются от компонентов реакционной смеси: праймеров, ферментов, солей, трифосфатов и других используемых компонентов.

Мы рекомендуем использовать данный набор также для очистки и концентрирования ДНК и РНК из других реакционных смесей, например, очистка после рестрикции, реакции обратной транскрипции, обработка ДНКазами, РНКазами и т.п..

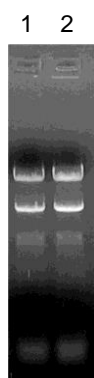
Полученные в ходе очистки продукты могут быть использованы для:

- секвенирования,
- рестрикционного анализа,
- гибридизации,
- ре-амплификации (*реамплификация продуктов ПЦР часто дает плохие результаты*).

Использование магнитных частиц дает возможность исследователю подобрать оптимальные количества используемых материалов и сделать процедуру выделения простой, быстрой и воспроизводимой.



Очистка продукта ПЦР
4. Исходный амплификат
1, 2, 3. Результат очистки



Очистка продукта рестрикции
2. Исходный рестрикт
1. Очищенный продукт

Протокол очистки

Внимание! Перед использованием магнитные частицы требуют тщательного ресуспендирования.

Процедура очистки рассчитана на 25 мкл исходной реакционной смеси. При работе с другими исходными объемами количества добавляемых компонентов должны быть изменены в соответствующих пропорциях. Может потребоваться дополнительная оптимизация протокола. При использовании магнитных частиц следует учитывать их емкость: 5 мкл частиц способны связать до 5 мкг нуклеиновой кислоты.

1. К 25 мкл реакционной смеси добавьте 100 мкл **Связывающего буфера**.
2. Внесите в пробирку 5 мкл суспензии **магнитных частиц**. Тщательно перемешайте частицы пипетированием.
3. Инкубируйте пробирку при комнатной температуре в течение 3 минут, периодически перемешивайте содержимое пипетированием.
4. Поместите пробирку в магнитный штатив, дождитесь, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирки и удалите супернатант.
5. Перенесите пробирку в обычный штатив, добавьте 100 мкл **Промывочного буфера 1**. Тщательно ресуспендируйте частицы в буфере до состояния гомогенной суспензии. Инкубируйте пробирку при комнатной температуре в течение 3 минут, периодически перемешивайте содержимое пипетированием.
6. Поместите пробирку в магнитный штатив, дождитесь, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирки и как можно тщательнее удалите супернатант.
7. Перенесите пробирку в обычный штатив, добавьте 100 мкл **Промывочного буфера 2**. Тщательно ресуспендируйте частицы в буфере до состояния гомогенной суспензии. Инкубируйте пробирку при комнатной температуре в течение 3 минут, периодически перемешивайте содержимое пипетированием.
8. Поместите пробирку в магнитный штатив, дождитесь, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирки и как можно тщательнее удалите супернатант.
9. Для лучшего высыхания осадка от следов **Промывочного буфера** мы рекомендуем поместить пробирку в термоблок на 60 °C на 5 минут. При отсутствии термостата пробирку можно оставить в магнитном штативе на 10 минут при комнатной температуре.
10. Перенесите пробирку в обычный штатив, внесите в пробирку с частицами от 25 до 50 мкл **Буфера для Элюции**. Тщательно ресуспендируйте частицы в буфере до состояния гомогенной суспензии. Количество добавляемого буфера определяется задачами.
11. Поместите пробирку в термоблок с температурой 60 °C на 5 минут.
Элюцию возможно проводить при комнатной температуре. Эффективность такой элюции приблизительно на 10-30% ниже, чем элюция при 60 °C и требует 10 минут.
12. Поместите пробирку в магнитный штатив, дождитесь, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирки и соберите супернатант, содержащий элюированный материал в отдельную пробирку.