евроген

# CleanMag DNA PCR

Магнитные частицы для очистки ДНК из реакционных смесей

Номера по каталогу:
BM035T — 1 мл
BM035S — 5 мл
BM035M — 25 мл
BM035L — 100 мл

Инструкция по применению

Версия 1 от 14 августа 2023 г.

# Оглавление

1. Назначение ..... 4
2. Преимущества ..... 4
3. Состав ..... 4
4. Условия хранения и транспортировки ..... 4
5. Метод ..... 4
6. Основные характеристики ..... 5
7. Необходимое оборудование и дополнительные материалы ..... 5
8. Биологический материал ..... 5
9. Протокол ..... 6

## 1. Назначение

Магнитные частицы CleanMag DNA PCR предназначены для эффективной очистки фрагментов ДНК из ферментативных реакционных смесей. CleanMag DNA PCR оптимален для работы с редкими образцами и малым количеством исходного материала. Выделенная ДНК пригодна для ПЦР, рестрикции, лигирования и других молекулярно-биологических приложений.

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

## 2. Преимущества

- Эффективная очистка малых количеств ДНК (от 10 нг).
- Очистка от фрагментов ДНК короче 150 п.о.
- Очистка от минерального масла и примесей (нуклеотидов, праймеров, солей, белков, ингибиторов ферментативных реакций и др.).
- Не требуется проведения дополнительных этапов фильтрации и центрифугирования, что увеличивает сохранность биоматериала.

## 3. Состав

| Компонент | BM035T<br>20 р-ций | BM035S<br>100 р-ций | BM035M<br>500 р-ций | BM035L<br>2 000 р-ций |
|---|---|---|---|---|
| Суспензия магнитных частиц CleanMag DNA PCR | 1 мл | 5 мл<br>(5 x 1 мл) | 25 мл | 100 мл<br>(4 x 25 мл) |

## 4. Условия хранения и транспортировки

**Хранение:** +4 °C.

**Транспортировка:** при комнатной температуре в сухом, защищенном от света месте в упаковке производителя.

**ВНИМАНИЕ!** Магнитные частицы нельзя замораживать.

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

## 5. Метод

Принцип метода основан на обратимом связывании ДНК на поверхности магнитных частиц. Связывание ДНК с магнитными частицами происходит в специально подобранном буфере с оптимальным солевым составом и pH. Частицы с сорбированной на своей поверхности ДНК

под действием магнитного поля штатива агрегируют в виде плотного осадка (магнитный штатив не входит в комплект). Несвязавшиеся нуклеотиды, праймеры, короткие фрагменты нуклеиновых кислот, соли, белки, ингибиторы ферментативных реакций, минеральное масло и другие органические соединения остаются в растворе. Последующие промывки 80% этанолом позволяют избавиться от этих примесей. Элюция ДНК с магнитных частиц происходит водой или низкосолевым слабощелочным буфером.

## 6. Основные характеристики

| Характеристика | Значение |
|---|---|
| Размер фрагментов очищенной ДНК | 150–10 000 п.о. |
| Объем очищенного образца ДНК (элюата) | 5–100 мкл |
| Выход ДНК* | До 90% |

* Выход ДНК зависит от длины фрагмента.

## 7. Необходимое оборудование и дополнительные материалы

- Магнитный штатив (например, для пробирок объемом 0.2 мл — кат. # BC038, объемом 0.5 мл — кат. # BC036M или для пробирок 1.5–2 мл — кат. ## BC037S/M/L, Евроген).
- Настольная центрифуга для пробирок с ускорением от 7 000 g.
- Мини-центрифуга.
- Микроцентрифужные пробирки (объем зависит от типа используемого магнитного штатива).
- Вода деионизированная, свободная от нуклеаз (например, кат. ## PB207S/M/L, Евроген) или любой низкосолевой раствор для элюции ДНК (например, Буфер для разведения ДНК, кат. # PB021, Евроген).
- Этанол 96%.

## 8. Биологический материал

ДНК в ферментативной реакционной смеси (ПЦР, рестрикция и т.д.). Суммарное количество очищаемой ДНК в реакционной смеси должно быть от 10 нг до 1 мкг. Допускается использование от 5 до 50 мкл биоматериала.
Магнитные частицы BM035T/S/M/L рассчитаны на 20/100/500/2 000 реакций соответственно при условии использования 25 мкл биоматериала.

# 9. Протокол

Общее время работы от 30 минут.

## 9.1. Подготовка растворов

1.1. Из 96%-го раствора этилового спирта приготовьте 80%-й раствор:

| Общий объем, мл | Объем 96% этанола, мл | Объем воды, мл |
|---|---|---|
| 1 | 0.85 | 0.15 |
| 5 | 4.2 | 0.8 |

**ВНИМАНИЕ!** При длительном хранении процентное содержание этанола в водном растворе снижается. Раствор этанола следует хранить в таре с плотно закрытой крышкой не более 1 месяца.

1.2. Перед началом работы достаньте из холодильника суспензию магнитных частиц CleanMag DNA PCR, перемешайте пипетированием до гомогенного состояния. Инкубируйте пробирку около 30 мин при комнатной температуре. После инкубации еще раз тщательно перемешайте частицы пипетированием.

► *Не используйте вортекс для перемешивания частиц, чтобы избежать их частичной фрагментации.*

## 9.2. Протокол очистки ДНК

► *Рекомендуемое количество биоматериала: от 10 нг до 1 мкг в 25 мкл реакционной смеси.*

2.1. Измерьте объем биоматериала (реакционной смеси) и рассчитайте необходимое количество магнитных частиц — воспользуйтесь таблицей ниже или соотношением: 1 объем биоматериала к 1.8 объема магнитных частиц.

| Объем реакционной смеси, мкл | Объем магнитных частиц, мкл |
|---|---|
| 5 | 9 |
| 10 | 18 |
| 25 | 45 |
| 50 | 90 |

2.2. Смешайте реакционную смесь и магнитные частицы, тщательно перемешайте пипетированием. Суспензия должна стать гомогенной.

2.3. Инкубируйте в течение 5 минут при комнатной температуре. В процессе инкубации перемешивайте суспензию 2–3 раза пипетированием.

2.4. Сбросьте капли с крышки и стенок пробирки на мини-центрифуге (2–3 с).

2.5. Поместите пробирку в магнитный штатив и инкубируйте в течение 2–5 минут, пока раствор не станет прозрачным.

► *Не переходите к следующему этапу, пока раствор остается мутным.*

2.6. Не вынимая пробирку из магнитного штатива, аккуратно, не задевая наконечником магнитные частицы, отберите супернатант и утилизируйте его.

► *На этом этапе частицы могут слегка перемещаться по стенкам пробирки при отборе жидкости. Визуально контролируйте положение осадка частиц. Допустимо оставить до 10–20 мкл жидкости на дне пробирки во избежание захвата частиц наконечником.*

2.7. Не меняя положение пробирки в штативе, добавьте в нее 200 мкл 80%-ого этанола. Через 30 секунд отберите супернатант и утилизируйте его.

► *Не перемешивайте осадок магнитных частиц и не меняйте положение пробирок в магнитном штативе. Если осадок был поврежден и магнитные частицы оказались в растворе, то оставьте пробирки в магнитном штативе на 2–3 минуты, пока раствор не станет прозрачным.*

2.8. Повторите п. 2.7. Полностью удалите супернатант, не оставляя капель на дне пробирки.

2.9. Достаньте пробирку из магнитного штатива.

► *Если на стенках остались капли, сбросьте их на мини-центрифуге (1–2 с). Отберите капли со дна пробирки, не задевая осадок частиц. Если капель не было, переходите к п. 2.10.*

2.10. Для испарения остатков спирта инкубируйте пробирку с открытой-крышкой при комнатной температуре в течение 3–10 минут.

► *При нужной степени высыхания частицы меняют цвет на более светлый.*

► *Для образцов с исходным количеством биоматериала до 25 мкл достаточно инкубировать в течение 3–5 минут. При использовании большего количества биоматериала (25–50 мкл) время инкубации может быть увеличено до 10 минут.*

► *Не рекомендуется пересушивать частицы (в сформированном пятне частиц появляются трещины), это может привести к частичному снижению выхода ДНК из-за ее необратимой сорбции на поверхности частиц.*

2.11. Добавьте в пробирку необходимое количество воды или элюирующего раствора: 1–2 объема исходного объема биоматериала (от 5 до 100 мкл).

- *Чем меньше объем элюции, тем выше будет концентрация очищенной ДНК. Однако при небольших объемах элюции (сопоставимых по объему с размером сформированного осадка), возможны потери части элюата.*

2.12. Хорошо перемешайте осадок пипетированием до гомогенного состояния суспезии. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 2–3 минут.

2.13. Поместите пробирку в магнитный штатив и инкубируйте в течение 2–5 минут, пока раствор не станет прозрачным.

- *Не переходите к следующему этапу, пока раствор остается мутным.*

2.14. Не задевая частиц, перенесите раствор очищенной ДНК в новую пробирку.

- *Случайный захват небольшого количества частиц не влияет на хранение очищенной ДНК, но может ингибировать ПЦР и другие энзиматические реакции. Если магнитные частицы попали в элюат, центрифугируйте пробирку с элюатом при максимальном ускорении (от 7 000 g) в течение 3 минут при комнатной температуре в настольной центрифуге.*

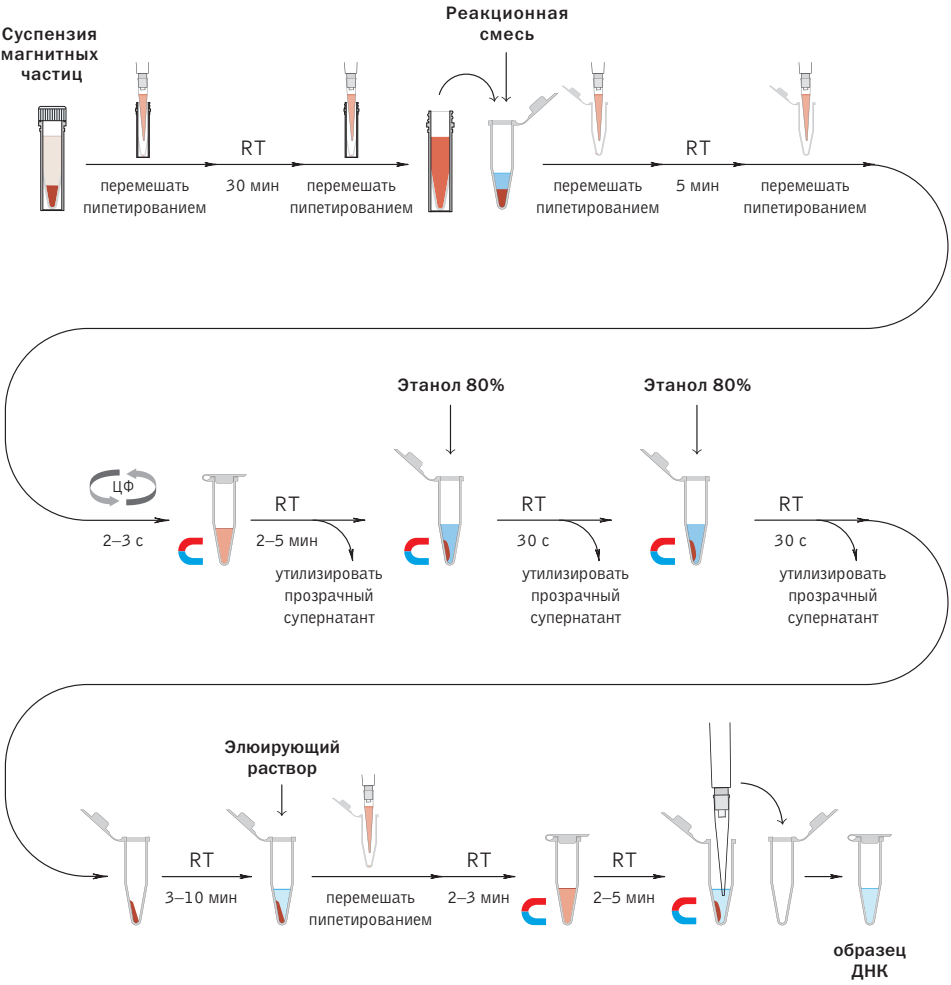


**Рисунок 1 – схема очистки ДНК с помощью CleanMag DNA PCR.**

## Для заметок

## Наборы и сервисы Евроген

Н ▸▸▸ – ссылка на страницу НАБОРА

С ▸▸▸ – ссылка на страницу СЕРВИСА

Выделение и очистка нуклеиновых кислот Н ▸▸▸

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*

**Подробную информацию о наших наборах и сервисах можно получить на сайте www.evrogen.ru**

ЗАО Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15
Тел.: +7 (495) 784-7084
order@evrogen.ru
www.evrogen.ru