

**Rai**ssol<sup>™</sup>  
**Bio**

**Набор реагентов для выделения плазмидной ДНК из  
бактериальной культуры  
«Plasmidex Maxi»**

## #plasmidexmaxi-25 #plasmidexmaxi-50

Набор предназначен для выделения плазмидной ДНК из культуры клеток *E. coli*. В набор включены все необходимые реагенты для выделения плазмидной ДНК:

1. Ресуспендирующий буфер – для разрушения конгломерата клеток;
2. Лизирующий буфер – на основе хаотропных агентов и детергентов для оптимального лизиса и денатурации геномной ДНК;
3. Нейтрализующий буфер – для стабилизации pH раствора;
4. Промывочный раствор – для промывки нуклеиновых кислот от клеточных метаболитов и солей;
5. Элюирующий буфер – для элюции и хранения нуклеиновых кислот, pH=8,9;
6. РНКаза А – для удаления РНК;
7. Спин-колонки – для сорбции НК.

**Буферы** набора «**Plasmidex Maxi**» могут храниться при комнатной температуре в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. В случае наличия осадка при минимальных температурах хранения растворы следует нагреть до комнатной температуры.

Фермент **РНКаза А** хранится при -20°C.

**!** После добавления **РНКазы А** в **ресуспендирующий буфер** полученный раствор следует хранить при +4°C не более 6 месяцев.

Необходимые материалы и оборудование: центрифужные пробирки объемом 50 мл; штатив для центрифужных пробирок объемом 50 мл; автоматические дозаторы переменного объема на 20-200 мкл, 100-1000 мкл, 500-5000 мкл и соответствующие одноразовые наконечники; спин-колонки (присутствуют в комплекте); скоростная центрифуга для пробирок объемом 50 мл до 13 тыс. об/мин.

### Подготовка растворов

Добавить весь объем РНКазы А в ресуспендирующий буфер.

Опционально: для повышения срока хранения растворов, **РНКаза А** может добавляться в образец индивидуально в объеме 5 мкл после внесения ресуспендирующего буфера.

## Plasmidex Maxi

### Проведение процедуры выделения плазмидной ДНК

#### Лизис

1. В пробирки объемом 50 мл внести 40-50 мл ночной бактериальной клеточной культуры<sup>1</sup> и центрифугировать в течение 10 минут при 3-5 тыс. об/мин. Удалить супернатант.
2. Добавить к осадку 5 мл ресуспендирующего буфера, перемешать на вортексе или пипетированием до полного разрушения конгломерата клеток.
3. Внести 5 мл лизирующего буфера. Перемешать с помощью плавного переворачивания пробирки или плавным пипетированием до прозрачности раствора. Инкубировать в течение 2-3 минут при комнатной температуре. **Не вортексировать**<sup>2</sup>.
4. Добавить 7 мл нейтрализующего буфера. Перемешать с помощью плавного переворачивания пробирки или плавным пипетированием до образования творожистой взвеси. **Не вортексировать**<sup>2</sup>. Инкубировать при комнатной температуре в течение 3-5 минут<sup>3</sup>.

#### Сорбция и осаждение НК

1. Центрифугировать пробирки в течение 40 минут на максимальной скорости.
2. Не задевая осадок, перенести 10 мл супернатанта в подготовленную спин-колонку.
3. Центрифугировать спин-колонки в течение 1 минуты при макс. об/мин. Удалить фильтрат из собирательных пробирок.

#### Промывка НК

1. Добавить 5 мл промывочного раствора и центрифугировать образцы в течение 1 минуты при макс. об/мин. Удалить фильтрат из собирательных пробирок.
2. Повторить пункт 1.
3. Вернуть спин-колонки в собирательные пробирки. Центрифугировать пробирки в течение 1 минуты при макс. об/мин для удаления остатков промывочного раствора.

#### Элюция НК

1. Утилизировать собирательные пробирки, перенести спин-колонки в новые пробирки объемом 50 мл.
2. Нанести в центр мембраны спин-колонок 1 мл элюирующего буфера, инкубировать в течение 2-5 минут при комнатной температуре.
3. Центрифугировать пробирки в течение 1 минуты при макс. об/мин.<sup>4</sup>
4. Утилизировать спин-колонки.

Полученные растворы плазмидной ДНК могут храниться до 7 дней при температуре от +2°C до +4°C и до двух лет при температуре -20°C. По соотношению показателей поглощения на A260/A280 чистота полученного раствора ДНК соответствует  $\geq 1,7$ .

<sup>1</sup> – рекомендованное время роста ночной бактериальной культуры не более 18 часов;

<sup>2</sup> – вортексирование может привести к дроблению хромосомной ДНК и, как следствие, загрязнению препарата геномной ДНК;

<sup>3</sup> – дополнительно пробирки могут быть охлаждены на льду в течение 2-3 минут для получения более плотного осадка

<sup>4</sup> – элюат может быть повторно нанесен на мембрану для повышения выхода плазмидной ДНК.