

# SiMax™ Plasmid DNA Miniprep Kit

**SiMax™ Plasmid DNA Miniprep Kit** je určený na rýchlu izoláciu a purifikáciu plazmidovej DNA (pDNA). V prítomnosti high salt roztoku je pDNA viazaná na SiMax™ membránu, umiestnenú v Spin kolónke. Po premytí Wash roztokom je pDNA eluovaná TE pufrom alebo vodou a **nevyžaduje následnú alkoholovú precipitáciu**. Z 3 ml bakteriálnej kultúry je možné v priebehu **30 minút vyizolovať 5~15 µg high-copy number pDNA**. Počas izolácie sú odstránené proteíny, RNA a ostatné nežiadúce nízkomolekulové bunkové komponenty. **Izolovaná pDNA má vysokú čistotu** a je ju možné priamo použiť na štiepenie, PCR, automatické a manuálne sekvenovanie a transformácie.

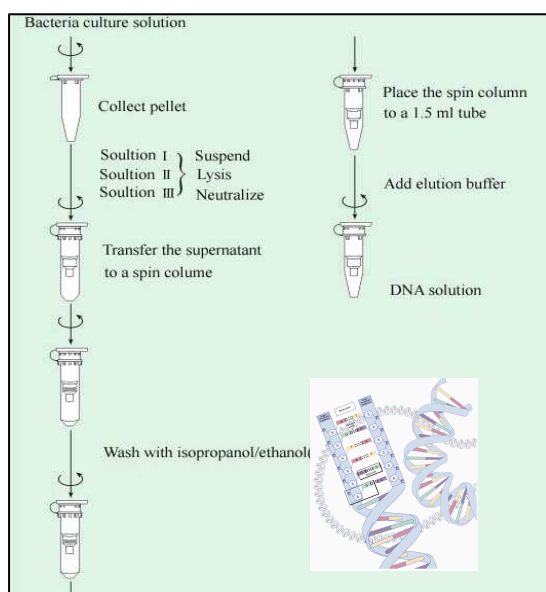
## SiMax™ Plasmid DNA Miniprep Kit

### Obsah izolačného kitu:

| Komponenty  | Množstvo |
|---|----------|
| 1. Resuspension Solution (Solution I) ( <b>uchovávajúte pri 4°C</b> ) | 7 ml     |
| 2. Lysis Solution (Solution II)                                       | 10 ml    |
| 3. Neutralization Solution (Solution III)                             | 10 ml    |
| 4. Binding buffer   | 25 ml    |
| 5. Miniprep spin columns with 2 ml collection tubes                   | 50       |

| Kat.č. | Popis a množstvo                                       | Cena s DPH                |
|--------|--|---------------------------|
| CSA-50 | <b>SiMax™ Plasmid DNA Miniprep Kit (50 Isolations)</b> | <b>€ 41,5</b><br>1 250 Sk |

**Upozornenie:** Solution I sa doporučuje uchovávať pri 4°C a pred použitím ohriať na izbovú teplotu (RT). Ostatné reagenty môžu byť skladované pri RT. Ak je RT nižšia než 25°C, môžu sa v niektorých roztokoch objaviť kryštáliky. Pre úspešnú izoláciu pDNA je vtedy nevyhnutné ich ohriať nad 25°C tak, aby sa uvedené kryštáliky úplne rozpustili.



### Pracovný postup:

- 3~5 ml nočnej bakteriálnej kultúry centrifugujte 30 sek pri 13,000 rpm a úplne odstráňte supernatant nad peletom.

**Upozornenie:** Kompletné odstránenie supernatantu je pre výťažnosť izolácie pDNA veľmi dôležité.

- Bunkový pellet **dôkladne resuspendujte** v 100 µl Solution I vortexovaním alebo pipetovaním.
- Pridajte 150 µl Solution II a obsah mikroskúmavky premiešajte je pretočením. Prevrátenie mikroskúmavky

opakujte 10-krát. Mikroskúmavku vložte do stojana a nechajte v kľude 1~3 minúty, t.j. do vyčistenia jej obsahu.

4. Pridajte 150 µl Solution III a obsah mikroskúmavky premiešajte je pretočením. Prevrátenie mikroskúmavky opakujte 10-krát. Následne mikroskúmavky centrifugujte 8~10 minút pri 13,000 rpm.
5. Vzniknutý supernatant preneste do novej 1.5 ml mikroskúmavky. Pridajte 0.4 ml Binding buffer a dôkladne premiešajte 1 minútovým prevracaním mikroskúmavky.
6. Vzniknutú zmes preneste do Miniprep spin kolónky, vloženej do 2 ml Collection tube a nechajte postáť najmenej 3 minúty. Potom komplet Spin/Collection mikroskúmavka centrifugujte 30 sek pri 13,000 rpm a pretečenú tekutinu z 2 ml Collection tube odstráňte. Spin kolónku vložte späť do 2 ml Collection tube.
7. Do spin kolónky pridajte 600 µl 80% isopropanolu (alebo 80% etanolu) a 1 min centrifugujte pri 13,000 rpm for 1 minute. Pretečenú tekutinu z 2 ml Collection tube odstráňte a Spin kolónku vložte späť do 2 ml Collection tube.
8. Krok 7 opakujte 1 až 2-krát a dôkladne odstráňte zbytkový isopropanol alebo etanol. Jeho prítomnosť môže inhibovať úspešnosť ďalších pracovných metód (štiepenie, PCR a pod.).
9. Spin kolónku vložte do novej 1.5 ml mikroskúmavky a na strednú časť SiMax™ membrány pridajte 50 µl TE pufra (v prípade sekvenovania pridajte 50 µl ultrapure vody) a nechajte postáť 3~5 minút pri RT. Výťažnosť sa zvýši, ak pridáte TE pufor alebo vodu ohriatu na cca 60°C. Následne pDNA eluujte 1 min centrifugáciou pri 13.000 rpm.

**Poznámka:** Ak potrebujete väčšie množstvo pDNA, je možné tento krok opakovať. Ďalší eluát má však nižšiu koncentráciu pDNA.

10. Kvalitu izolovanej pDNA určite elektroforézou v 1% agarózovom géli farbeným GoldView™ alebo EtBr. Pre dlhodobé uskladnenie DNA uchováajte pri pDNA pri -20°C alebo pre okamžité použitie pri 4°C.

**Optional:** Ak pozorujete prítomnosť RNA, doporučuje sa k izolovanej pDNA pridať 0.5 µl roztoku RNase A (10 mg/ml) a inkubovať pri 37°C po dobu 30 minút. Prítomnosť RNA však neinterferuje s downstream aplikáciami (štiepenie, transformácia, sekvenovanie)

## Doplňková informácia

- ♦ Ak je množstvo vstupnej bakteriálnej kultúry vyššie než doporučené, zvýšte proporcionálne aj množstvo Solution I, II a III. Vzniknutý lyzát následne proporcionálne rozdeľte do jednotlivých Spin kolóniek a potom postupujte ako pri miniprepech.