

SiMax™ PCR Products/Agarose Gel Purification Kit

SiMax™ PCR Products/Agarose Gel Purification Kit je určený na **rýchlu purifikáciu PCR produktov** alebo efektívnu **extrakciu DNA fragmentov z agarózových gélov**. V prítomnosti high-salt buffer je DNA v Spin kolónke viazaná na SiMax™ membránu. Po premytí je DNA eluovaná TE pufrom alebo vodou **bez potreby následnej precipitácie** alebo odsolenia. Kit spoľahlivo odstraňuje DNA polymerázu, dNTPs a soli. **DNA fragmenty od 50 bp do 20 kb je možné purifikovať do 20 minút.**

Kat.č.	Popis a množstvo	Cena s DPH
CSB-50	SiMax™ PCR Products/Agarose Gel Purification Kit (50 purifications)	€ 39 1 174 Sk

Obsah kitu

	50 preps
1. NE binding buffer	50 ml
2. Miniprep spin columns with 2 ml collection tubes	50 ks

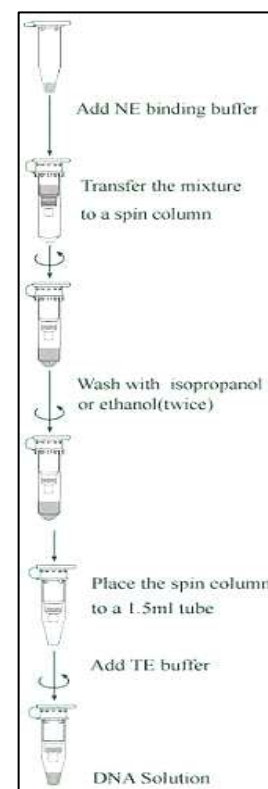
Potrebný doplnkový materiál:

- 80% isopropanol alebo 80% etanol
- Ultrapure water alebo TE buffer

Protokol

A. Purifikácia DNA amplikónov z PCR reakcií

- K 50~100 µl PCR alebo inej enzymatickej reakcii pridajte **300 µl NE binding buffer** a dôkladne premiešajte. Vzniknutú zmes preneste do Miniprep spin kolónky, vloženú do 2 ml Collection tube a nechajte **postáť najmenej 5 minút**. Následne komplet vložte do centrifúgy a centrifugujte 10~20 sek pri 13,000 rpm. Tekutinu z Collection tube odstráňte a vložte do nej späť Miniprep Spin kolónku.
- Do Spin kolónky pridajte 500 µl 80% isopropanolu (alebo 80% etanolu), centrifugujte 30 sek pri 13,000 rpm. Tekutinu z Collection tube odstráňte a vložte do nej späť Miniprep spin kolónku.
- Premývací krok 2 zopakujte
- Následne Spin kolónku, vloženú v 2 ml Collection tube centrifugujte ďalšiu 1 minútu pri 13,000 rpm, čím sa z membrány odstráni reziduálny isopropanol/etanol.
- Spin kolónku vložte do novej 1.5 ml mikroskúmavky a tento komplet nechajte stáť 2~3 minúty. Viečko mikroskúmavky musí byť otvorené, aby sa z membrány kompletne odparil etanol.
- Do stredu SiMax™ membrány Spin kolónky pridajte 40~50 ul TE pufru alebo ultračistej



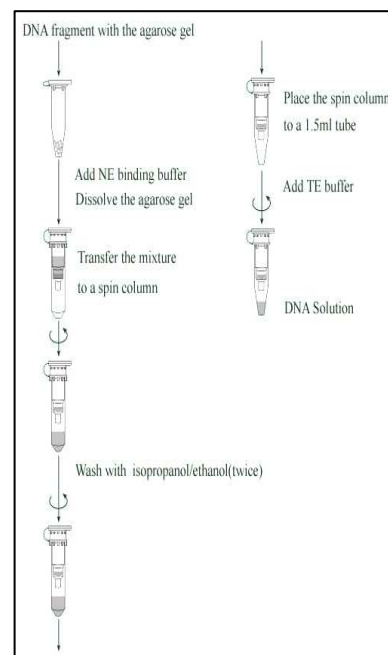
vody a nechajte inkubovať 3~5 minúty (Vvyšší výťažok dosiahnete, ak pridaný elučný roztok bude zahriaty na cca 60°C). DNA následne eluujte 1 minútovou centrifugáciou pri 13,000 rpm.

Poznámka: Ak je požadované vyššie množstvo DNA je možné posledný krok opakovať. Koncentrácia DNA sa tým však zníži.

7. Kvalitu purifikovaných DNA fragmentov stanovte agarózovou elektroforézou s **GoldView™** alebo EtBr farbením. Pre dlhodobé uskladnenie uchovávajte DNA pri -20°C.

B. Extracia DNA fragmentov z agarózového gélu

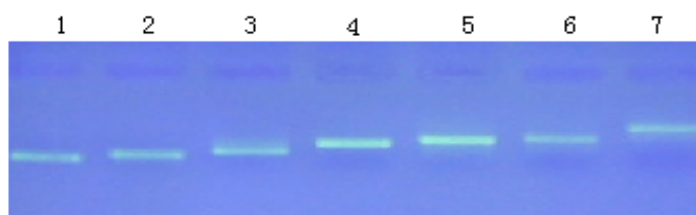
- Požadovaný DNA fragment vyrežte z agarózy pomocou ostrého skalpela. Vyrezaný agarózový bloček odvážte a vložte do 1.5 ml mikroskúmavky.
- Do mikroskúmavky s 100 mg agarózovým bločkom pridajte 300 µl NE binding buffer. Inkubujte 3~5 minúty pri 50~60°C s občasným prevracaním mikroskúmavky tak, aby sa agarózový blok úplne rozpustil.
- Vzniknutú zmes preneste do Miniprep Spin kolónky, vloženej do 2 ml Collection tube a nechajte stáť 5 minút. Následne centrifugujte 10~20 sekúnd pri 13,000 rpm Tekutinu z Collection tube odstráňte a vložte do nej späť Miniprep Spin kolónku.
- Do Spin kolónky pridajte 500 µl 80% isopropanolu (alebo 80% etanolu), centrifugujte 30 sek pri 13,000 rpm. Tekutinu z Collection tube odstráňte a vložte do nej späť Miniprep spin kolónku.
- Premývací krok 4 zopakujte
- Následne Spin kolónku, vloženú v 2 ml Collection tube centrifugujte ďalšiu 1 minútu pri 13,000 rpm, čím sa z membrány odstráni reziduálny isopropanol/etanol.
- Spin kolónku vložte do novej 1.5 ml mikroskúmavky a tento komplet nechajte stáť 2~3 minúty. Viečko mikroskúmavky musí byť otvorené, aby sa z membrány kompletne odparil etanol.
- Do stredu SiMax™ membrány Spin kolónky pridajte 40~50 ul TE pufru alebo ultračistej vody a nechajte inkubovať 3~5 minúty (Vyšší výťažok dosiahnete, ak pridaný elučný roztok bude zahriaty na cca 60°C). DNA následne eluujte 1 minútovou centrifugáciou pri 13,000 rpm.



Poznámka: Ak je požadované vyššie množstvo DNA je možné posledný krok opakovať. Koncentrácia DNA sa tým však zníži.

8. Kvalitu purifikovaných DNA fragmentov stanovte agarózovou elektroforézou s **GoldView™** alebo EtBr farbením. Pre dlhodobé uskladnenie uchovávajte DNA pri -20°C. Pre dlhodobé uskladnenie uchovávajte DNA pri -20°C.

Známe množstvo (2 µg) siedmych DNA fragmentov bolo z agarózy extrahovaných pomocou SiMax™ PCR Products/Agarose Gel Purification Kit. 1/10 objemu z každého extrahovaného fragmentu bola analyzovaná agarózovou elektroforézou. Výťažok bol cca 80%.



DNA fragmenty extrahované z agarózového gélu

1% agarose gel stained with **GoldView™** (TAE buffer)

- 200bp fragment recovered from gel
- 300bp fragment recovered from gel
- 400bp fragment recovered from gel
- 500bp fragment recovered from gel
- 750bp fragment recovered from gel
- 900bp fragment recovered from gel
- 1,000bp fragment recovered from gel