Lumiprobe
Life science solutions

LumiPure DNA Gel Extraction Kit manual

Lumiprobe Corporation. All rights reserved.

Contents

Deutsch: Handbuch für das LumiPure DNA-Extraktionskit aus Agarosegelen 3-7

English: LumiPure DNA Gel Extraction Kit manual 8-13

Русский: Инструкция к набору LumiPure для выделения ДНК из агарозного геля 14-19

DE

Handbuch für das LumiPure DNA-Extraktionskit aus Agarosegelen

Dieses Kit dient der schnellen (ca. 20 Minuten) und effizienten ($A_{260}/A_{280} > 1,8$) DNA-Extraktion aus Agarosegelen oder DNA-Aufreinigung aus Reaktionsansätzen. Die im Kit enthaltenen Säulchen binden bis zu 5 oder 20 µg DNA mit Fragmentlängen von 70–10.000 bp, wobei die Rückgewinnungsrate aus Agarosegelen mindestens 50 % und aus Reaktionsansätzen mindestens 75 % beträgt. Die extrahierte DNA eignet sich für alle gängigen molekularbiologischen Verfahren, u. a. für PCR, Ligation, Transformation, Markierungsreaktionen, Restriktionsverdau und Sequenzierung (Sanger- und NGS-Verfahren).

Bestandteile

Komponente	Anzahl			
	13793 10 preps (5 µg)	23793 50 preps (5 µg)	15793 10 preps (20 µg)	25793 50 preps (20 µg)
D1450, Neutralisierungspuffer / Neutralization Buffer, 2 mL	1	1	1	1
K3450, Gel-Solubilisierungspuffer / Gel Solubilization Buffer, 10 mL	1	—	1	—
K2250, Waschlösung B / Wash Solution B (Konzentrat muss mit 96%igem Ethanol 5-fach verdünnt werden), 10.0 mL	1	1	1	1
D1350, Elutionspuffer / Elution Buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.5), 1.5 mL	1	2	1	4
Zentrifugationssäulchen CNP05 (für bis zu 5 µg, weißer Ring)	10	50	—	—
Sammelgefäß für Zentrifugationssäulchen, 2 ml	10	50	10	50
S3450, Gel-Solubilisierungspuffer / Gel Solubilization Buffer, 50 mL	—	1	—	1
Zentrifugationssäulchen CNP20-A (für bis zu 20 µg, grüner Ring)	—	—	10	50

Bei Raumtemperatur lagern.

Haltbarkeit: 12 Monate.

Benötigte, aber nicht mitgelieferte Geräte und Materialien:

- Laborwaage mit einer Genauigkeit von mindestens 0,01 g
- Heizblock oder Wasserbad
- Tischzentrifuge mit mindestens 10.000 min^{-1} (6.700 × *g*) und Rotor für 1,5-ml-Röhrchen
- 1,5-ml-Zentrifugenröhrchen (2 Röhrchen pro DNA-Extraktion aus einer Probe)
- 96 % Ethanol (4-faches Volumen der *Wash Solution B*, die als Konzentrat geliefert wird)
- Isopropanol (ca. 100 µl pro Probe)

Vorbereitung der Reagenzien

1. *Wash Solution B* wird als Konzentrat geliefert und muss vor der ersten Verwendung 1:5 mit 96%igem Ethanol verdünnt werden. Dazu versetzen Sie das auf der Flasche angegebene Volumen des Konzentrats mit dem 4-fachen Volumen an 96%igem Ethanol und notieren Sie die Zugabe auf dem Deckel.
2. Sollten sich im *Gel Solubilization Buffer* Salzkristalle gebildet haben, erwärmen Sie die Lösung auf maximal 50 °C, bis sich der Niederschlag vollständig aufgelöst hat. Lassen Sie die Lösung auf 25 °C abkühlen.

DNA-Extraktion aus Agarosegel

1. Stellen Sie den Heizblock auf 50 °C ein.
2. Schneiden Sie die gewünschte DNA-Bande mit einem Skalpell oder Messer aus

dem Gel heraus. Entnehmen Sie dabei möglichst wenig vom die DNA-Bande umgebenden Gel.

! Setzen Sie das zu isolierende DNA-Fragment nicht länger als nötig dem UV-Licht aus und legen Sie das Gel während der Bestrahlung auf eine Glas- oder Kunststoffplatte. UV-induzierte DNA-Schäden werden dadurch minimiert.

3. Wiegen Sie ein leeres 1,5-ml-Röhrchen und stellen Sie die Waage auf null. Überführen Sie das entnommene Gelstück in das 1,5-ml-Röhrchen und wiegen Sie es erneut. Notieren Sie das Gewicht des Gelstücks.

4. Versetzen Sie das Gelstück mit 4 µl *Gel Solubilization Buffer* pro mg Agarosegel (z.B. 400 µl *Gel Solubilization Buffer* auf ein 100 mg schweres Gelstück).

   ! Arbeiten Sie mit mehreren DNA-Proben gleichzeitig, so empfiehlt es sich, in jedes Röhrchen dasselbe Volumen an Gel Solubilization Buffer, bezogen auf das Gewicht des schwersten Gelstücks, zu pipettieren.

5. Inkubieren Sie die Probe 10 Minuten bei 50 °C, bis sich das Agarosegel vollständig aufgelöst hat. Schwenken Sie das Röhrchen zwischendurch gelegentlich durch Invertieren.

   ! Für Gele mit mehr als 2 % Agarosegehalt verlängern Sie die Inkubationszeit, bis sich das Gel vollständig aufgelöst hat.

6. Stellen Sie nach vollständigem Auflösen des Gelstücks sicher, dass die Lösung gelb gefärbt ist. Sollte die Lösung violett sein, geben Sie 5 µl *Neutralization Buffer* pro 1000 µl Probe hinzu. Sobald Sie mischen, schlägt die Farbe wieder von violett nach gelb um.

   Der Gel Solubilization Buffer enthält einen Farbindikator zur Kontrolle des optimalen pH-Wertes, bei dem DNA am besten an die Säulenmembran bindet. Eine Violettfärbung der Lösung zeigt eine unerwünschte Erhöhung des pH-Wertes an. In diesem Fall wird der pH-Wert durch Zugabe von Neutralization Buffer wieder in den optimalen Bereich abgesenkt.

7. Lassen Sie die Röhrchen auf Raumtemperatur abkühlen.

8. Fügen Sie dem Ansatz 1 µl Isopropanol pro mg ausgeschnittenem Gelstück zu (z.B. 100 µl Isopropanol zu einer Probe mit einem Ausgangsgewicht des Gelstücks von 100 mg). Mischen Sie die Lösung.

DNA-Aufreinigung

Alle folgenden Arbeitsschritte werden bei Raumtemperatur, alle Zentrifugationsschritte mit 10.000–13.000 min^{-1} (6.700–11.000 × *g*) ausgeführt.

1. Stecken Sie je Ansatz ein Zentrifugationssäulchen in ein Sammelgefäß. Geben Sie die Probe auf die Säule (maximal 900 µl pro Ladung) und zentrifugieren Sie 30 Sekunden lang. Entnehmen Sie die Säule aus dem Sammelgefäß, verwerfen Sie den Durchfluss und stecken Sie die Säule in das Sammelgefäß zurück. Beträgt das Volumen der Probe mehr als 900 µl, geben Sie nun das restliche Volumen der Probe auf die Säule und wiederholen Sie den Zentrifugationsschritt.
2. Geben Sie 500 µl *Wash Solution B* auf die Säule und zentrifugieren Sie 3 Minuten lang. Entnehmen Sie die Säule aus dem Sammelgefäß, verwerfen Sie den Durchfluss und stecken Sie die Säule in das Sammelgefäß zurück.
3. *(optional)* Wiederholen Sie den Waschschritt. Geben Sie 500 µl *Wash Solution B* auf die Säule und zentrifugieren Sie 3 Minuten lang. Verwerfen Sie den Durchfluss mitsamt dem Sammelgefäß.
4. Stecken Sie die Säule in ein sauberes 1,5-ml-Röhrchen und pipettieren Sie 10–50 µl (falls DNA-Bindekapazität der Säule 5 µg ist) oder 25–100 µl (falls DNA-Bindekapazität der Säule 20 µg ist) *Elution Buffer* in die Mitte der Membran. Nach einer Minute bei Raumtemperatur zentrifugieren Sie 60 Sekunden lang. Die isolierte DNA befindet sich nun im Eluat.

   ! Für eine höhere DNA-Endkonzentration kann mit geringeren Volumina an Elutionspuffer eluiert werden — jedoch nicht mit weniger als 10 µl (DNA-Bindekapazität der Säule ist 5 µg) oder 25 µl (DNA-Bindekapazität der Säule ist 20 µg), weil die Säulenmembran dann möglicherweise nicht vollständig benetzt würde, was zu einem teilweisen DNA-Verlust führen könnte. Für eine höhere DNA-Ausbeute sollte mit größeren Volumina an Elutionspuffer (50 µl falls DNA-Bindekapazität der Säule 5 µg ist oder 100 µl falls DNA-Bindekapazität der Säule 20 µg ist) eluiert werden.

   ! Falls notwendig, kann die Elution auch mit deionisiertem Wasser erfolgen.

DNA-Aufreinigung aus enzymatischen Reaktionsansätzen

1. Geben Sie zum Reaktionsansatz den *Gel Solubilization Buffer* im Verhältnis 1+4 hinzu (z. B. 400 µl Gel Solubilization Buffer zu 100 µl Reaktionsansatz).
2. Stellen Sie sicher, dass die Lösung gelb gefärbt ist. Sollte die Lösung violett sein, geben Sie 5 µl *Neutralization Buffer* pro 1000 µl Probe hinzu. Sobald Sie mischen, schlägt die Farbe wieder von violett nach gelb um.

   Der Gel Solubilization Buffer enthält einen Farbindikator zur Kontrolle des optimalen pH-Wertes, bei dem DNA am besten an die Säulenmembran bindet. Eine Violettfärbung der Lösung zeigt eine unerwünschte Erhöhung des pH-Wertes an. In diesem Fall wird der pH-Wert durch Zugabe von Neutralization Buffer wieder in den optimalen Bereich abgesenkt.
3. Fügen Sie dem Ansatz Isopropanol im Verhältnis 1+1 bezogen auf das anfängliche Probenvolumen hinzu (z.B. 100 µl Isopropanol auf 100 µl Ausgangsvolumen des enzymatischen Reaktionsansatzes, der mit 400 µl *Gel Solubilization Buffer* gemischt wurde). Mischen Sie die Lösung.
4. Befolgen Sie den Abschnitt «DNA-Aufreinigung» weiter oben.

Anmerkung

Bei der DNA-Konzentrationsbestimmung verwenden Sie zum Verdünnen der DNA-Probe bitte ausschließlich TE-Puffer pH 8,5 oder den *Elution Buffer* aus dem Kit. Andernfalls könnten die Reinheit der DNA-Probe (aus dem Verhältnis A_{260}/A_{280}) und die DNA-Konzentration (A_{260}) falsch abgeschätzt werden.

Lagerung der isolierten DNA: im Gefrierfach (-20 °C), kurzfristig bei +4 °C.

LumiPure DNA Gel Extraction Kit manual

The kit allows rapid (about 20 minutes) and efficient ($OD_{260}/OD_{280}>1.8$) purification of DNA fragments from agarose gels or enzymatic reactions. Spin columns supplied with the kit enable purification of up to 5 or 20 µg of DNA 70 bp–10 kb in size, and the recovery of the purified DNA is not less than 50 % when purifying from agarose gels and not less than 75 % when purifying from enzymatic reactions. The purified DNA is suitable for any subsequent application, such as PCR, restriction enzyme digestion, ligation and transformation, labeling, Southern blotting, sample preparation for Sanger sequencing and NGS, etc.

Kit components

Kit component	Count			
	13793 10 preps (5 µg)	23793 50 preps (5 µg)	15793 10 preps (20 µg)	25793 50 preps (20 µg)
D1450, Neutralization Buffer, 2 mL	1	1	1	1
K3450, Gel Solubilization Buffer, 10 mL	1	—	1	—
K2250, Wash Solution B (Concentrate to be diluted 5x with ethanol 96%), 10.0 mL	1	1	1	1
D1350, Elution Buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.5), 1.5 mL	1	2	1	4
Spin column CNP05 (up to 5 µg, white ring)	10	50	—	—
Collection tube for spin column, 2 mL	10	50	10	50
S3450, Gel Solubilization Buffer, 50 mL	—	1	—	1
Spin column CNP20-A (up to 20 µg, green ring)	—	—	10	50

Store at room temperature.

Shelf life 12 months.

Equipment and reagents supplied by user:

- 96 % ethanol (the necessary volume is equal to 4 volumes of the *Wash Solution B* concentrate supplied with the kit)
- isopropanol (about 100 µL for DNA purification from 1 typical sample)
- 1.5 mL microcentrifuge tubes (2 tubes for DNA purification from 1 sample)
- microcentrifuge with rotor for 1.5 mL tubes and capable of centrifuging >10,000 RPM (6700 × *g*)
- heating block (alternatively, a water bath can be used)
- laboratory balance with a precision of at least 0.01 g

Before starting

1. Dilute the *Wash Solution B* concentrate 5× with 96 % ethanol (add 4 volumes of 96 % ethanol to 1 volume of concentrate specified on the bottle). Mark on the label that ethanol has been added.
2. If any precipitate has formed in *Gel Solubilization Buffer*, incubate the solution at a temperature not higher than 50 °C until the precipitate has been completely dissolved.

DNA fragment extraction from the gel

1. Set a heating block to 50 °C.
2. Excise a gel slice containing the DNA fragment with a clean scalpel or razor blade. Minimize the size of the gel slice by cutting as close to the DNA as possible.

   ! Reduce UV exposure of the gel slice containing the DNA fragment or keep the gel slice on a glass or plastic plate during UV illumination. This minimizes DNA damage induced by UV light.

3. Weigh a clean 1.5 mL microcentrifuge tube and tare the balance. Place the gel slice into an equivalent clean 1.5 mL tube and weigh. Record the weight of the gel slice.
4. Add 4 µL of *Gel Solubilization Buffer* to every mg of agarose gel (4+1) (e.g., add 400 µL of Gel Solubilization Buffer to a gel slice with a weight of 100 mg).

   ! When working with multiple samples — gel slices containing DNA fragments — it is convenient to add to all samples the same volume of Gel Solubilization Buffer calculated for the biggest gel slice.
5. Incubate the tube at 50 °C for 10 min with occasional mixing by inversion (1–2 times) until the gel slice is completely dissolved.

   ! For gels with an agarose content greater than 2 %, increase the incubation time until the gel slice has completely dissolved.
6. After the gel slice has dissolved completely, check that the color of the mixture is yellow. If the color of the mixture is violet, add 5 µL of *Neutralization Buffer* to every 1000 µL of the DNA sample. The color of the mixture will turn to yellow.

   The Gel Solubilization Buffer contains a color pH indicator allowing easy monitoring of the pH value optimal for DNA binding to the column membrane. Violet color indicates that the solution is too alkaline. In this case Neutralization Buffer should be added to adjust the pH value for efficient DNA binding.
7. Allow the contents of all tubes to cool down to room temperature.
8. Add 1 µL of isopropanol to every mg of solubilized agarose gel (e.g., add 100 µL of isopropanol to 100 mg solubilized gel slice). Mix thoroughly.

DNA purification

All centrifugation steps are carried out at room temperature, at 10,000–13,000 RPM (6700–11,000 x *g*).

1. Place a spin column in a collection tube. Add the sample to the column (to a maximum of 900 µL per single load). Centrifuge the column for 30 seconds. Discard the flow-through and place the column back into the same collection tube.

For sample volumes exceeding 900 µL load the remainder and repeat the procedure.

2. Add 500 µL of *Wash Solution B*, centrifuge the column for 3 minutes. Discard the flow-through and place the column back into the same collection tube.
3. *(optional)* Repeat the washing. Add 500 µL of *Wash Solution B*, centrifuge the column for 3 minutes. Discard the collection tube with the flow-through.
4. Place the spin column into a clean 1.5 mL microcentrifuge tube. Add *Elution Buffer* to the center of the spin column membrane: 10–50 µL when using spin column with binding capacity of 5 µg DNA or 25–100 µL when using spin column with binding capacity of 20 µg DNA. Incubate at room temperature for 1 minute. Centrifuge the column for 1 minute. The microcentrifuge tube contains the purified DNA.

   ! For increased DNA concentrations, use a low volume of Elution Buffer. Elution with volumes of less than 10 µL (spin column with binding capacity of 5 µg DNA) or 25 µL (spin column with binding capacity of 20 µg DNA) is not recommended because this can be insufficient to entirely wet the membrane resulting in low DNA recovery. For increased DNA yield, use a higher volume of Elution Buffer (50 µL when using spin column with binding capacity of 5 µg DNA or 100 µL when using spin column with binding capacity of 20 µg DNA).

   ! If necessary, the DNA can be eluted with deionized water.

DNA fragment purification from enzymatic reactions

1. Add 4 volumes of *Gel Solubilization Buffer* to 1 volume of the reaction sample (e.g., add 400 µL of Gel Solubilization Buffer to 100 µL of the reaction sample). Mix thoroughly.
2. Check that the color of the mixture is yellow. If the color of the mixture is violet, add 5 µL of *Neutralization Buffer* to every 1000 µL of the DNA sample. The color of the mixture will turn to yellow.

   The Gel Solubilization Buffer contains a color pH indicator allowing easy monitoring of the pH value optimal for DNA binding to the column membrane. Violet color

indicates that the solution is too alkaline. In this case Neutralization Buffer should be added to adjust the pH value for efficient DNA binding.

3. Add 1 volume of isopropanol to 1 volume of the initial reaction solution (e.g., add 100 µL of isopropanol to 100 µL of the initial reaction solution that was mixed with 400 µL of *Gel Solubilization Buffer*). Mix thoroughly.
4. Proceed with the protocol «DNA purification» above.

Note

When measuring the DNA concentration, dilute the sample only with TE buffer pH 8.5 or *Elution Buffer* supplied with the kit. Otherwise, DNA concentration and purity (OD_{260} and OD_{260}/OD_{280}, respectively) can be estimated incorrectly.

Storage of purified DNA: for long-term storage -20 °C, for short-term storage +4 °C.

Инструкция к набору LumiPure для выделения ДНК из агарозного геля

Данный набор предназначен для быстрого (~ 20 минут) и высокоэффективного ($OD_{260}/OD_{280}>1.8$) выделения ДНК из агарозного геля или очистки ДНК из реакционной смеси. Входящие в состав набора колонки обеспечивают выделение до 5 или 20 мкг ДНК размером 70 п.о.—10 000 п.о., при этом выход очищенной ДНК составляет при выделении из геля не менее 50 %, при выделении из реакционной смеси не менее 75%. Очищенная ДНК пригодна для любых молекулярно-биологических работ, включая ПЦР, лигирование, трансформацию, мечение, обработку эндонуклеазами рестрикции, подготовку образцов для секвенирования по методу Сэнгера и NGS-секвенирования и др.

Состав набора

Компонент набора	Количество			
	13793 10 preps (5 µg)	23793 50 preps (5 µg)	15793 10 preps (20 µg)	25793 50 preps (20 µg)
D1450, Нейтрализующий буфер / Neutralization Buffer, 2 mL	1	1	1	1
K3450, Буфер для растворения геля / Gel Solubilization Buffer, 10 mL	1	—	1	—
K2250, Промывочный раствор B / Wash Solution B (концентрат 5x для разбавления 96% этанолом), 10.0 mL	1	1	1	1
D1350, Элюирующий буфер / Elution Buffer (10 мМ Tris-HCl, pH 8.5), 1.5 mL	1	2	1	4
Колонка CNP05 (до 5 мкг, белое кольцо)	10	50	—	—
Пробирка для сбора проскока, 2 мл	10	50	10	50
S3450, Буфер для растворения геля / Gel Solubilization Buffer, 50 mL	—	1	—	1
Колонка CNP20-A (до 20 мкг, зеленое кольцо)	—	—	10	50

Хранить при комнатной температуре.

Срок хранения 12 месяцев.

Необходимое оборудование и материалы, не входящие в состав набора:

- 96 % этанол (необходимый объем составляет 4 объема концентрата *промывочного раствора B*, входящего в состав набора);
- Изопропанол (в среднем 100 мкл на 1 образец);
- Микроцентрифужные пробирки объемом 1.5 мл (2 пробирки для выделения ДНК из 1 образца);
- Настольная центрифуга с ротором для 1.5 мл пробирок со скоростью вращения не менее 10000 об/мин (6700 x g);
- Твердотельный термостат (возможно использование водяной бани);
- Лабораторные весы с точностью не менее 0,01 г.

Перед началом работы

1. Разбавьте концентрат *промывочного раствора B* в 5 раз 96 % этанолом (к указанному на банке объему концентрата добавьте 4 объема 96 % этанола), поставьте отметку о добавлении этанола на крышке.
2. При наличии осадка в *буфере для растворения геля* прогрейте его в термостате до температуры не выше 50 °C и дождитесь полного растворения осадка. После этого охладите раствор до 25 °C.

Выделение фрагментов ДНК из геля

1. Установите термостат на 50 °C.
2. С помощью скальпеля или лезвия вырежьте часть геля с необходимым

фрагментом ДНК. Старайтесь минимизировать количество геля, окружающего фрагмент ДНК.

! По возможности сократите время нахождения выделяемого фрагмента ДНК в УФ-свете или во время облучения держите гель на стеклянной или пластиковой подложке. Это минимизирует индуцируемые ультрафиолетом повреждения ДНК.

3. На весах взвесьте пустую пробирку объемом 1.5 мл, обнулите показания. Перенесите вырезанный фрагмент агарозного геля в аналогичную отдельную чистую пробирку объёмом 1.5 мл, взвесьте. Запишите показания прибора.
4. Добавьте *буфер для растворения геля* к фрагменту геля из расчёта 4 мкл буфера для растворения геля на 1 мг вырезанного фрагмента геля (например, в пробирку с фрагментом геля массой 100 мг следует добавить 400 мкл буфера для растворения геля).

   ! При работе с несколькими фрагментами ДНК удобно добавлять во все пробирки одинаковый объем буфера для растворения геля, рассчитанный по массе наибольшего фрагмента геля.

5. Инкубируйте образец при 50 °C в течение 10 мин до полного растворения гелевого компонента, периодически перемешивая пробирки переворачиванием.

   ! Если содержание агарозы в геле превышает 2 %, увеличьте время инкубации до полного растворения фрагмента геля.

6. После полного растворения фрагмента геля убедитесь, что раствор имеет жёлтый цвет. Если цвет раствора стал фиолетовым, добавьте к образцу *нейтрализующий буфер* из расчёта 5 мкл нейтрализующего буфера на 1000 мкл образца, перемешайте. Цвет раствора снова станет жёлтым.

   Буфер для растворения геля содержит цветовой индикатор, выполняющий функцию контроля оптимального pH, при котором происходит эффективное связывание ДНК с сорбентом колонки. Наблюдение фиолетовых оттенков в растворе указывает на сдвиг pH в щелочную сторону. В этом случае для понижения pH до оптимального значения следует добавить нейтрализующий буфер.

7. Дайте остыть содержимому пробирок до комнатной температуры.
8. Добавьте в пробирку изопропанол из расчёта 1 мкл изопропанола на 1 мг вырезанного фрагмента геля (например, в пробирку с растворенным фрагментом геля с исходной массой 100 мг следует добавить 100 мкл изопропанола). Перемешайте.

Очистка ДНК

Работы следует выполнять при комнатной температуре, все центрифугирования при 10000–13000 об/мин (6700–11000 x g).

1. Поместите колонку в пробирку для сбора проскока, перенесите на колонку полученный раствор ДНК (не более 900 мкл за одно нанесение). Центрифугируйте 30 сек. Извлеките колонку из пробирки, вылейте проскок, поместите колонку обратно. В случае если объём раствора ДНК был более 900 мкл, нанесите на колонку оставшийся раствор ДНК и повторите процедуру.
2. Нанесите на колонку 500 мкл *промывочного раствора B,* центрифугируйте 3 мин. Извлеките колонку из пробирки, вылейте проскок, поместите колонку обратно.
3. *(Опционально)* Повторите промывку. Нанесите на колонку 500 мкл *промывочного раствора B*, центрифугируйте 3 мин.
4. Поместите колонку в новую 1.5 мл пробирку, нанесите в центр колонки *элюирующий буфер*: 10–50 мкл при использовании колонок емкостью до 5 мкг ДНК и 25–100 мкл при использовании колонок емкостью до 20 мкг ДНК. Инкубируйте 1 мин при комнатной температуре. Центрифугируйте 60 сек. Выделенная ДНК находится в элюате.

   ! Для наибольшей концентрации ДНК используйте меньшие объёмы элюирующего буфера. Не рекомендуется использовать менее 10 мкл для колонок емкостью до 5 мкг ДНК и 25 мкл для колонок емкостью до 20 мкг ДНК, так как мембрана колонки может не полностью смочиться, что приведет к частичной потере ДНК. Для наибольшего выхода ДНК с колонки используйте

больший объём элюирующего буфера (50 мкл для колонок емкостью до 5 мкг ДНК и 100 мкл для колонок емкостью до 20 мкг ДНК).

! При необходимости элюцию можно проводить деионизованной водой.

Очистка фрагментов ДНК после ферментативной реакции

1. Добавьте 4 объема *буфера для растворения геля* к 1 объему раствора ферментативной реакции (например, к 100 мкл реакционной смеси добавьте 400 мкл буфера для растворения геля).
2. Убедитесь, что раствор имеет жёлтый цвет. Если цвет раствора стал фиолетовым, добавьте к образцу *нейтрализующий буфер* из расчёта 5 мкл нейтрализующего буфера на 1000 мкл образца, перемешайте. Цвет раствора снова станет жёлтым.

   Буфер для растворения геля содержит цветовой индикатор, выполняющий функцию контроля оптимального pH, при котором происходит эффективное связывание ДНК с сорбентом колонки. Наблюдение фиолетовых оттенков в растворе указывает на сдвиг pH в щелочную сторону. В этом случае для понижения pH до оптимального значения следует добавить нейтрализующий буфер.
3. К полученной смеси добавьте изопропанол из расчёта 1 объем изопропанола на 1 объем исходного раствора ферментативной реакции, перемешайте (например, если исходный объём ферментативной реакции 100 мкл, то следует добавить 100 мкл изопропанола). Далее следуйте протоколу «Очистки ДНК».

Примечание

Если необходимо разбавить раствор при измерении концентрации ДНК, то для разбавления следует использовать только буфер TE pH 8.5 или *элюирующий буфер*

из набора. В противном случае можно получить некорректные значения OD_{260}/OD_{280} и неверно определить содержание ДНК в растворе.

Хранение выделенной ДНК: в морозильной камере (-20 °C), кратковременно при +4 °C.

Ver. G1D9M
#5555H

Lumiprobe Corporation

201 International Circle, Suite 135
Hunt Valley, Maryland 21030
USA
Phone: +1 888 973 63 53

Lumiprobe GmbH

Feodor-Lynen-Strasse 23
30625 Hannover
Germany
Phone: +49 511 16596811

Lumiprobe RUS

Kotsyubinskogo 4, bld. 3
121351 Moscow
Russian Federation
Phone: +7 800 775 3271

Lumiprobe Limited

Suite 29, 3/F, Great Eagle Center
23 Harbour Rd., Wan Chai
Hong Kong
Phone: +852 8009 38633

scan this QR or enter
www.lumiprobe.com/contact
to contact our
representative

ISO 9001:2015

The certificate No.: 44 100 202070
Issued by TÜV NORD CERT GmbH

www.lumiprobe.com