



Метод прямого переосаждения ДНК в мягких условиях

При получении гомогенного ПЦР продукта, представленного только одной полосой, без шлейфа, возможно использование прямого осаждения в МЯГКИХ условиях для очистки от праймеров и других компонентов ПЦР-реакции, без использования коммерческих наборов.

Смесь NH_4Ac + EtOH

(конечная концентрация ацетата аммония – 0,125 М, этанола – 70 %)

Реактив	На 1 пробу (10 мкл)
dd H_2O	4,7 мкл
NH_4Ac 5М	1,5 мкл
Et OH 96%	43,8 мкл
Всего:	50 мкл

**смесь следует заранее достать из холодильника, чтобы она нагрелась до комнатной температуры!*

Добавить по 50 мкл смеси ацетата аммония с этанолом на 10 мкл ПЦР смеси, перемешать на вортексе или переворачиванием. Высаживание проводить **при комнатной температуре** в течение 20 минут, затем центрифугировать при 14000 об/мин в течение 20 мин, удалить супернатант, осадок промыть 250–500 мкл 70% этанола комнатной температуры и высушить в термостате или вакуумной центрифуге.

Примечание: при высаживании из большего объема, количество этанола для промывки следует увеличить.

Растворить в деионизованной воде, определить концентрацию на агарозном геле и использовать аликвоту для постановки сиквенсной реакции.