

Amplifikace a izolace plazmidů

Popis služby

Provádíme namnožení plazmidové DNA v bakteriálních buňkách *Escherichia coli*. Jako následnou službu nabízíme linearizaci plazmidu pomocí restriktivního štěpení. Tato operace je vhodná

zejména při použití plazmidu jako PCR standardu. Hotové plazmidy dodáváme ve formátech **midiprep** a **maxiprep**. Typické výtěžky vizte níže.

Produktové varianty

Katalogové číslo	Produkt
1851-001	Midiprep "high copy"
1852-001	Midiprep "low/very low copy"
1853-001	Maxiprep "high copy"
1854-001	Maxiprep "low/very low copy"

Parametry produktu

Výtěžek izolace plazmidu je závislý na **mnoha faktorech**, především na sekvenci pro počátek DNA replikace (tzv. místu ORI), velikosti plazmidu a vlastnostech vloženého inzertu (například vložená sekvence shRNA/miRNA může výtěžek plazmidu výrazně snižovat). **Pro maximální výtěžek** je vhodné spolu s plazmidem dodat informaci o zařazení plazmidu do

skupiny „high copy“ nebo „low/very low copy“ dle doporučení v tabulce. Při nevhodném zařazení plazmidu nemůžeme nést zodpovědnost za celkový výtěžek. V případě dodání podrobnějších informací o plazmidu (délka, název původního vektoru a mapa plazmidu) jej zařadíme do vhodné skupiny sami.

Typ plazmidu	Příklady plazmidů	Velikost plazmidu	Běžný výtěžek (midiprep)	Běžný výtěžek (maxiprep)
„high copy“	pUC, pBluescript, pGEM, pTZ	5 kb a méně	100-800 µg	500-1500 µg
„low/very low copy“	pBR322 a odvozené pACYC, odvozené pSC101 a odvozené SuperCos pWE15	nad 5 kb	50-150 µg	400-800 µg

Požadavky na vstupní materiál

Plazmid lze zaslat buď ve formě roztoku, nebo jako vysušenou kapku na filtračním papírku.

- minimální množství plazmidu v roztoku: 100 ng
- minimální množství plazmidu na filtračním papírku: 1 µg
- minimální čistota (A260/A280) alespoň 1,8±0,1

Od zákazníka dále potřebujeme specifikovat gen pro rezistenci k antibiotiku a zařazení plazmidu do skupiny „high copy“ nebo „low/very low copy“.

Výstup

Plazmid je zasílán jako roztok ve sterilním TE pufru (na vyžádání ve sterilní deionizované vodě). Zákazník dále obdrží informace o koncentraci a čistotě.

