

Precipitace DNA s využitím etanolu a octanu sodného

1. K precipitaci použijte 3M octan sodný. Octanu sodného přidejte o objemu cca 1/10 finálního objemu roztoku (např. pokud máte 500 μ l roztoku DNA, přidejte 55 μ l 3M octanu sodného). V případě, že pracujete s malým množstvím DNA (< 2 μ g), pro snadnější zviditelnění sedimentu v následném centrifugačním kroku, přidejte glykogen (0,5 μ l glykogenu o koncentraci 50mg/ml do roztoku DNA o objemu 500 μ l) nebo t-RNA (o finální koncentraci 50 μ g/ml).
2. Přidejte 2-2,5 objemy 100% etanolu (nejlépe předchlazeného), dobře promíchejte. Pro zvýšení účinnosti inkubujte nejméně hodinu v -20°C.
3. Centrifugujte při 4°C, při alespoň 13 000 rpm, 20 min.
4. Odstraňte supernatant a přidejte stejný objem 75% etanolu. Centrifugujte při 4°C, při alespoň 13 000 rpm, 2 min.
5. Odstraňte supernatant a zbytky etanolu nechte odpařit.
6. Rozpusťte získaný sediment ve vodě nebo TE pufru.



DNA se v etanolu, který je o koncentraci > 70% nerozpouští. Tzn., pokud je z nějakého důvodu koncentrace přidávaného alkoholu nedostatečná, jednak nedojde k precipitaci a jednak, pokud je alkohol přidáván k již vytvořenému sedimentu DNA, dojde k rychlému rozpuštění sedimentu a ztrátě DNA.