

### **Přečištění DNA pomocí EDTA (ethyldiamintetraoctová kyselina) a ethanolu**

Do destičky napipetujte 2,5  $\mu$ l 125 mM EDTA, 10,0  $\mu$ l vzorku po PCR a 25,0  $\mu$ l 100% ethanolu. Destičku přelepte fólií a několikrát otočte, aby se směs promíchala. Následuje inkubace ve tmě po dobu 15 min při pokojové teplotě. Poté destičku centrifugujte po dobu 30 min při 3000 x g při 4 °C. Z destičky odlepte fólii a nechte ji centrifugovat dnem vzhůru na papírové utěrce po dobu 1 min 8 x g při 4 °C. Do destičky napipetujte 30  $\mu$ l 70% ethanolu, přelepte fólií a centrifugujte 15 minut při 3000 x g 4 °C. Z destičky poté odlepte fólii a nechte ji centrifugovat dnem vzhůru na papírové utěrce po dobu 1 min 8 x g při 4 °C. Vložte destičku do termostatu a nechte odpařit ethanol při 95 °C cca 1 min. Přidejte 10,0  $\mu$ l formamidu, destičku promíchejte na vortexu a krátce zcentrifugujte. Vzorky přeneste do nové destičky a nechte DNA zdenaturovat v termostatu cca 2 min. Díky tomu dojde k oddělení vláken od sebe a vzniku ssDNA. Aby zůstala DNA v jednořetězcové formě, zchlaďte destičku v mrazáku a krátce zcentrifugujte.