Общество с ограниченной ответственностью
«Биолабмикс»
ИНН 5408278957 КПП 540801001
630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,
ул. Инженерная, дом № 28
Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40
E-mail: sales@biolabmix.ru

Набор для выделения ДНК из крови на магнитных частицах

Кат. номер MagBlood-100

Важно!

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с набором, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с набором. Последняя версия протокола доступна на сайте компании ООО «Биолабмикс» (www.biolabmix.ru). Наборы предназначены только для научно-исследовательских целей. Протокол обновлён 18.01.2024.

Описание

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК из образцов цельной крови (в том числе замороженной), взятой в одноразовые пробирки со следующими антикоагулянтами: K_3EDTA, цитрат натрия 3.2% и 3.8%, CPDA, гепарин натрия.

Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот из предварительно лизированного образца на магнитных частицах на основе оксида железа и оксида кремния, последующей промывке и элюции очищенного продукта. В процессе выделения целостность ДНК сохраняется.

Выделение ДНК возможно как ручным способом, с помощью магнитного штатива, так и автоматическим способом, с использованием автоматической станции Auto-Pure96 (Allsheng).

Выделенная ДНК может быть использована для проведения ПЦР.

Состав набора

	MagBlood-100 100 выделений
Буфер для лизиса LB	50 мл
Буфер для сорбции BB	2x40 мл
Буфер для промывки WB	2x60 мл
Буфер для элюции EB	15 мл
Магнитные частицы M	4x1500 мкл

Меры предосторожности

Осторожно! Буферы LB, BB, WB содержат растворы веществ, оказывающих раздражающее и токсичное действие. При работе необходимо соблюдать правила общей и личной техники безопасности. Токсичен при попадании на кожу и внутрь, оказывает раздражающее действие.
Осторожно! Буферы BB и WB содержат изопропанол, оказывающий раздражающее и токсичное действие. Не проводить работы с раствором в непосредственной близости от открытого огня.

При попадании на кожу промойте немедленно большим количеством воды и моющего средства (детергента). При необходимости обратитесь за медицинской помощью.

Внимание! При работе с биологическими жидкостями следует надевать одноразовые резиновые перчатки, так как исследуемый материал является потенциально инфицированным, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции. Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

Эксплуатация

Компоненты: LB, BB, WB, EB, M стабильны в течение всего срока годности.

Условия работы

Температура окружающей среды от +15 до +25 °C;
Относительная влажность воздуха не более 80 %;
Атмосферное давление 630 – 800 мм. рт. ст.

Материалы и оборудование необходимые для работы

Ручной способ

- Магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок на 1.5-2 мл
- Нагревательный блок, поддерживающий температуру до 60°C
- Вортекс
- Микроцентрифужные пробирки на 1.5-2 мл
- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них
- Перчатки резиновые

Автоматический способ

- Глубоколуночный планшет с V-образными лунками на 2 мл, 5 шт.
- Наконечники для магнитных стержней или гребёнка, 1 шт.
- Одноканальные/многоканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них
- Перчатки резиновые

Протокол выделения ДНК. Ручной способ

1.1) Лизис образцов. Без использования протеиназы

1. Пробирку с цельной кровью аккуратно перемешать, не допускать расслоения образца на плазму и клеточную фракцию.
2. В микропробирку отобрать 200 мкл цельной крови.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 400 мкл буфера для лизиса LB.
4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 минут при 60 °C.

1.2) Лизис образцов. С использованием протеиназы

1. Пробирку с цельной кровью аккуратно перемешать, не допускать расслоения образца на плазму и клеточную фракцию.
2. В микропробирку отобрать 200 мкл цельной крови.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 200 мкл буфера для лизиса LB.
4. Чистым одноразовым наконечником добавить 20 мкл протеиназы K (20 мг/мл).

Примечание: раствор протеиназы K не входит в «Набор для выделения ДНК из крови на магнитных частицах» (Кат. № MagBlood-100). Раствор протеиназы K (20 мг/мл) присутствует в каталоге ООО «Биолабмикс» (Кат. № EP-1200).

5. Перемешать образец пипетированием или на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
6. Инкубировать 10 минут при 60 °C.

2) Сорбция образца на магнитных частицах

1. Ресуспендировать магнитные частицы перемешиванием вручную или на вортексе до образования однородной суспензии.
2. К лизату добавить равный объём буфера для сорбции BB. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной смеси.

Пример 1. При подготовке лизата использовали 200 мкл образца и 400 буфера для лизиса – необходимый объём буфера для сорбции BB равен 600 мкл.

Пример 2. При подготовке лизата использовали 200 мкл образца, 200 буфера для лизиса, 20 мкл протеиназы K – необходимый объём буфера для сорбции BB равен 420 мкл. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной смеси.

3. Добавить 50 мкл суспензии магнитных частиц, сразу же перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.
4. Инкубировать 10 мин.
5. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 5 мин.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

6. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.

3) Промывка магнитных частиц

1. Добавить в пробирку с магнитными частицами 500 мкл буфера для промывки WB. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.
2. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 5 мин.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

3. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.
4. Повторить п. 1-3.
5. Сушить пробирку с магнитными частицами на воздухе при 15-25 °C 5-15 минут или до полного высыхания (устранения запаха спирта).

4) Элюция ДНК

1. Добавить в пробирку с магнитными частицами 50-100 мкл буфера для элюции EB. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии. Инкубировать 5 мин при 15-25 °C.

Примечание: Буфер для элюции – 0.01 M Tris•HCl (pH 8.0). Элюировать образец также можно TE буфером (0.01 M Tris•HCl, 0.001 M EDTA, pH 8.0-8.5) либо водой (pH 8.0-8.5, pH доводить раствором NaOH).

2. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 5 мин.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

3. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать, не задевая магнитные частицы, и перенести супернатант, содержащий ДНК, в чистую пробирку.
4. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20°C. Для длительного хранения рекомендуется добавить EDTA (pH 8) до конечной концентрации 0.1-1 мМ.

Примечание: EDTA может ингибировать ферментативные реакции, например, ПЦР.

Примечание: Анализ выделенной ДНК можно провести с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле или с помощью ПЦР.

Примечание: Концентрацию выделенной ДНК нельзя определить с помощью УФ-спектрометрии, рекомендуется использовать флуориметрические методы определения концентрации ДНК.

Протокол выделения ДНК. Автоматический способ. Auto-Pure 96 (Allsheng)

1) Лизис образцов. Подготовка планшетов

1. Планшет, позиция № 1. Гребёнка. Поместить в чистый 96-луночный планшет гребёнку.
2. Планшет, позиция № 2. Лизис. Добавить в лунку планшета компоненты, перечисленные ниже. Выбрать один из вариантов.

Вариант 1. 200 мкл буфера для лизиса LB, затем 200 мкл цельной крови.

Вариант 2. 300 мкл буфера для лизиса LB, затем 100 мкл цельной крови.

Вариант 3. 200 мкл буфера для лизиса LB, 20 мкл раствора протеиназы K (20 мг/мл), затем 200 мкл цельной крови.

Примечание: раствор протеиназы K не входит в «Набор для выделения ДНК из крови на магнитных частицах» (Кат. № MagBlood-100). Раствор протеиназы K присутствует в каталоге ООО «Биолабмикс» (Кат. № EP-1200).

Примечание: использование протеиназы K позволяет увеличить выход ДНК в 2-4 раза. Допускается предварительно подготовить смесь буфера для лизиса LB и протеиназы K. Не хранить данную смесь.

3. Планшет, позиция № 3. Промывка. Добавить в лунку планшета 500 мкл буфера для промывки WB.
4. Планшет, позиция № 4. Промывка. Добавить в лунку планшета 500 мкл буфера для промывки WB.
5. Планшет, позиция № 8. Элюция ДНК. Добавить в лунку планшета 100 мкл буфера для элюции EB.

Примечание: Буфер для элюции – 0.01 M Tris•HCl (pH 8.0).

6. Запустить программу «MB_lys» на станции Auto-Pure 96 (Allsheng).

Примечание: на данном этапе происходит лизис образца.

7. После окончания программы «MB_lys» извлечь планшет с позиции № 2, содержащий готовый лизат.

2) Сорбция и очистка образца на магнитных частицах

1. В чистой пробирке подготовить смесь буфера для сорбции BB и магнитных частиц. Перемешать на вортексе или вручную до получения однородной суспензии. Смесь готовить после окончания программы «MB_lys», не хранить смесь.

   1 проба. 450 мкл буфера для сорбции BB, 50 мкл магнитных частиц M.

100 проб (+10%). 50 мл буфера для сорбции BB, 5.5 мл магнитных частиц M, суммарный объём 55.5 мл.

2. Внести в лунки планшета с лизатом, находившемся на позиции № 2 по 500 мкл смеси буфера для сорбции BB и магнитных частиц.
3. Вернуть планшет с лизатом на позицию №2.
4. Запустить программу «MB_pur» на станции Auto-Pure 96 (Allsheng).

Примечание: на данном этапе происходит очистка ДНК.

5. После завершения программы «MB_pur» выделенная ДНК будет находиться в планшете на позиции №8.
6. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20°C.

Примечание: Анализ выделенной ДНК можно провести с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле или с помощью ПЦР.

Примечание: Концентрацию выделенной ДНК нельзя определить с помощью УФ-спектрометрии, рекомендуется использовать флуориметрические методы определения концентрации ДНК.

Важно! Файлы с программами «MB_lys» и «MB_pur» для станции Auto-Pure 96 (Allsheng) можно получить следующими способами:

- самостоятельно загрузить на сайте компании ООО «Биолабмикс» (www.biolabmix.ru), для удобства в поисковой строке указать каталожный номер продукта (MagBlood-100);
- связаться с сотрудниками отдела продаж компании ООО «Биолабмикс» (sales@biolabmix.ru, тел. 8-800-600-88-76).

Условия хранения и транспортировки:

Набор хранить при комнатной температуре (15-25 °C). Магнитные частицы хранить при 2-8 °C. Срок годности см. на упаковке.

Внимание! Не нагревать набор выше температуры +25 °C, несоблюдение температурного режима хранения и транспортировки снижает эффективность выделения.

Транспортирование набора производить при температуре от +15 до +25°C. Допускается транспортирование при температуре не выше +25°C в течение 14 суток.