



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 N-Gel для выделения ДНК и РНК из агарозного геля**

Кат. номер N-Gel-10, N-Gel-50, N-Gel-250

### **Важно!**

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с набором, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с продуктом.

Наборы предназначены только для научно-исследовательских целей.

Протокол обновлён 12.12.2023.

### **Описание**

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК и РНК, из вырезанных фрагментов агарозного геля с массой до 200 мг и содержанием агарозы до 3 %.

Принцип действия набора основан на селективной сорбции ДНК и РНК из предварительно растворенного образца на мемbrane из диоксида кремния, последующей промывке и элюции очищенного продукта.

Выделенный материал может быть использован для проведения ПЦР, секвенирования и дальнейших генно-инженерных работ.

## **Состав набора**

	N-Gel-10 10 выделений	N-Gel-50 50 выделений	N-Gel-250 250 выделений	
			Вариант 1	Вариант 2
Буфер для растворения агарозы PB	8 мл	40 мл	4x50 мл	2x100 мл
Буфер для промывки WB (концентрат)	1.1	6 мл	3x10 мл	2x15 мл
Буфер для элюции ДНК EBD	5 мл	15 мл	60 мл	60 мл
Буфер для элюции РНК EBR	5 мл	15 мл	60 мл	60 мл
Изопропанол	3 мл	15 мл	60 мл	60 мл
3 M ацетат натрия, pH 5.5	0.2 мл	1 мл	5 мл	5 мл
Пробирки для сбора фильтрата с колонками для сорбции образца	10 шт.	50 шт.	250 шт.	250 шт.

Набор N-Gel-250 поставляется в одном из двух вариантов

## **Меры предосторожности**

**Осторожно!** Буфер для растворения агарозы PB содержит раствор хаотропной соли, оказывающий раздражающее и токсичное действие. При работе необходимо соблюдать правила общей и личной техники безопасности.

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

## **Эксплуатация**

Компоненты: PB, WB, EBD, EBR, изопропанол, ацетат натрия стабильны после вскрытия флаконов при температуре от +15 °C до +25 °C в течение всего срока годности при условии достаточной герметизации флаконов.

**Внимание!** При охлаждении буфера PB ниже +15 °C, возможно, выпадения осадка. Для растворения осадка инкубировать буфер PB при 25–50 °C периодически перемешивая до полного растворения осадка.

## **Условия работы**

Температура окружающей среды от +15 до +25 °C;

Относительная влажность воздуха не более 80 %;

Атмосферное давление 630 – 800 мм. рт. ст.

## **Оборудование и материалы, не входящие в набор**

- Термошайкер или твердотельный термостат, поддерживающий температуру 50±1 °C;
- Центрифуга для микропробирок на 1.5–2 мл, скорость 10000 rcf;
- Лабораторные весы с дискретностью не ниже, чем 10 мг;
- Трансиллюминатор с источником ультрафиолетового излучения и защитным стеклом;

- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них;
- Этанол, 96–100% раствор;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5–2 мл.

### **Перед началом работы**

**Подготовка буфера для промывки WB.**

- **1 выделение, 500 мкл WB.**

К 100 мкл буфера WB (концентрат) добавить 400 мкл 96–100% этилена.

- **10 выделений.** К 1.1 мл буфера WB (концентрат) добавить 4.4 мл 96–100% этилена, чтобы получить 5.5 мл буфера WB.

- **50 выделений.** К 6 мл буфера WB (концентрат) добавить 24 мл 96–100% этилена, чтобы получить 30 мл буфера WB.

- **250 выделений. Вариант 1.** К 10 мл буфера WB (концентрат) добавить 40 мл 96–100% этилена, чтобы получить 50 мл буфера WB.

- **250 выделений. Вариант 2.** К 15 мл буфера WB (концентрат) добавить 60 мл 96–100% этилена, чтобы получить 75 мл буфера WB.

Рекомендуется добавлять этилен к аликовому буферу WB, поскольку при хранении буфера с этиленом в течение нескольких месяцев этилен может частично испариться.

## **Протокол выделения ДНК/РНК.**

### **1) Подготовка и взвешивание образцов**

1. Подготовить и подписать микропробирки для образцов.
2. Поместить лист агарозного геля на рабочую поверхность трансиллюминатора и включить УФ-лампу.

**Осторожно!** Прямое попадание УФ-лучей на незакрытые участки тела приводит к серьезным повреждениям кожи и глаз. Перед включением УФ-лампы убедитесь, что кожа рук закрыта, а стекло трансиллюминатора опущено и защищает глаза оператора и окружающих людей. Используйте перчатки с длинной манжетой и халаты с длинными рукавами.

3. При помощи чистого скальпеля или аналогичного инструмента вырезать фрагмент геля, соответствующий интересующему фрагменту ДНК или РНК, не затрагивая другие фрагменты.
4. Взвесить вырезанный фрагмент геля. Объём 100 мг геля равен 100 мкл.

**Примечание:** не использовать более 200 мг геля для выделения ДНК или РНК.

### **2) Растворение геля и нанесение на колонку**

1. Добавить в пробирку с образцом агарозного геля 3 объёма буфера для растворения агарозы РВ (на 100 мг геля 300 мкл буфера РВ).
2. Инкубировать при 50°C, 10 мин периодически перемешивая.
3. После инкубации тщательно перемешать образец вручную или на вортексе до тех пор, пока смесь в пробирке не станет однородной. Убедиться, что гель полностью растворился.

**Примечание:** если гель не полностью растворился повторить инкубацию при 50°C, 10 мин.

**Примечание:** буфер РВ содержит pH-индикатор. Если после растворения образца геля в буфере РВ раствор остался ярко-жёлтым, то образец пригоден для нанесения на колонку. Если раствор посветел или стал розовым, то к образцу добавить 10 мкл 3 М ацетата натрия pH 5.5 (входит в состав набора), чтобы раствор стал ярко-жёлтым.

4. Добавить 1 объем изопропанола (входит в состав набора) на 1 объем геля.
5. Перенести не более 800 мкл образца на колонку. Центрифугировать 30 с, 10000 rcf. Удалить фильтрат.

**Примечание:** если после центрифугирования часть раствора осталась на колонке, повторить центрифугирование увеличив время и/или скорость центрифугирования, не добавляя новую порцию образца.

**Примечание:** если объём образца после растворения геля и добавления изопропанола больше 800 мкл, повторно нанести избыток на ту же колонку и повторить центрифугирование.

### **3) Промывка колонки**

1. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB. Центрифугировать 30 с, 10000 rcf. Удалить фильтрат.

**Примечание:** не забудьте предварительно добавить к буферу WB этанол.

2. Центрифугировать колонку 3 мин, 10000 rcf для полного удаления буфера WB.

#### 4) Элюция ДНК или РНК

1. Перенести колонку в новую микропробирку на 1.5–2 мл (не входит в состав набора). Плотно прижать колонку к пробирке.
2. Нанести на центр фильтра колонки 60 мкл буфера для элюции ДНК EBD или буфера для элюции РНК EBR. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15–25°C). Центрифугировать 1 мин, 10000 rcf.
  - Буфер для элюции EBD – 0.01 M Tris·HCl (pH 8.0). Элюцию можно проводить 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).
  - Для длительного хранения ДНК рекомендуется добавить EDTA (pH 8.0) до конечной концентрации 0.1–1 мМ.

**Примечание:** EDTA может ингибиривать ферментативные реакции, например, ПЦР.

Буфер для элюции РНК EBR – вода, очищенная от РНКаз.

3. Элюат, содержащий ДНК или РНК, хранить при -20°C.

## **Анализ выделенной ДНК**

Анализ выделенных ДНК или РНК можно провести с помощью ПЦР или ОТ-ПЦР соответственно, а также с помощью УФ-спектрометрии, флуориметрии, агарозного или полиакриламидного гель-электрофореза.

**Примечание:** Количество выделенных ДНК или РНК может быть ниже уровня, детектируемого с помощью гель-электрофореза в агарозном геле или УФ-спектрометрии.

### **Дополнительные реагенты:**

В каталоге ООО «Биолабмикс» представлены реагенты для проведения гель-электрофореза нуклеиновых кислот

- Буферы для электрофореза в агарозном геле:  
трис-ацетатный буфер (Кат. № BE-DNA-500, BE-DNA-1000),  
трис-боратный буфер (Кат. № TBE-500).
- Раствор бромистого этидия (Кат. № EtBr-10) для визуализации НК.
- Буферы для внесения образцов ДНК и РНК в гель  
(Кат. № D-3001, D-3002, D-3003).
- Маркеры молекулярных весов ДНК  
(Кат. № S-8000, S-8100, S-8103, S-8055, S-8250, S-8150).

### **Условия хранения и транспортировки:**

Набор хранить при комнатной температуре (15–25°C). Срок годности см. на упаковке.

Транспортирование набора производить при температуре от +15 до +25°C.