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 геномной ДНК из клеток, тканей и крови

Кат. номер DU-10, DU-50, DU-250

Важно!

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с реагентом, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с продуктом.
Наборы предназначены только для научно-исследовательских целей.
Протокол обновлён 25.08.2023.

Описание

Набор предназначен для выделения и очистки геномной ДНК из следующих образцов:

1. Культуры эукариотических клеток;
2. Культуры клеток грамотрицательных и грамположительных бактерий;
3. Тканей животных и растений;
4. Кровь.

Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот из предварительно лизированного образца на кремниевой мембране, последующей промывке и элюции очищенного продукта. Возможно выделение до 30-50 мкг ДНК.

Выделенная ДНК может быть использована для ПЦР, ник-трансляции и других генно-инженерных приложений.

Состав набора

	DU-10 10 выделений	DU-50 50 выделений	DU-250 250 выделений	
			Вариант 1	Вариант 2
Буфер для лизиса LB	8 мл	40 мл	4x50 мл	2x100 мл
Буфер для промывки WB1	5.5 мл	30 мл	3x50 мл	2x75 мл
Буфер для промывки WB2 (концентрат)	1.1 мл	6 мл	3x10 мл	2x15 мл
Буфер для элюции EB	5 мл	15 мл	60 мл	60 мл
Пробирки для сбора фильтрата и колонки для сорбции образца	10 шт	50 шт	250 шт	250 шт

Набор DU-250 поставляется в одном из двух вариантов

Меры предосторожности

Осторожно! Буферы для лизиса LB и для промывки WB1 содержат 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: LB, WB1, WB2, EB стабильны после вскрытия флаконов при температуре от +15°C до +25°C в течение всего срока годности при условии достаточной герметизации флаконов.

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

- Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 10000 rcf;
- Вортекс;
- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5 мл;
- Этанол, 96-100% раствор;
- Лизоцим, при выделении ДНК из грамположительных бактерий.

Перед началом работы

- Подготовка буфера WB2

- **1 выделение, 500 мкл WB2**.К 100 мкл буфера WB2 (концентрат) добавить 400 мкл этанола.
- **10 выделений.** К 1.1 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 4.4 мл этанола, чтобы получить 5.5 мл буфера WB2.
- **50 выделений**. К 6 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 24 мл этанола, чтобы получить 30 мл буфера WB2.
- **250 выделений. Вариант 1**. К 10 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 40 мл этанола, чтобы получить 50 мл буфера WB2.
- **250 выделений. Вариант 2**. К 15 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 60 мл этанола, чтобы получить 75 мл буфера WB2.

Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте буфера WB2, поскольку при хранении буфера с этанолом в течение нескольких месяцев этанол может частично испариться.

Если планируется выделять ДНК из грамположительных бактерий, приготовить раствор лизоцима с концентрацией 50 мг/мл в TE буфере (0.01 M Tris-HCl, 0.001 M EDTA, pH 8.0).

Протокол выделения ДНК или РНК

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.

1) Подготовка и лизис образцов

- Осадок культур эукариотических и бактериальных клеток, лимфоцитов.

1. Осадок клеток ресуспендировать в 50 мкл PBS.

Примечание: не использовать более $5*10^6$ клеток млекопитающих или лимфоцитов и более $1*10^8$ клеток бактерий.

Примечание: при выделении ДНК из грамположительных бактерий добавить 30 мкл раствора лизоцима (50 мг/мл) в TE буфере (0.01 M Tris-HCl, 0.001 M EDTA, pH 8.0). Инкубировать 10 мин при Ткомн (15-25^{0}C).

2. Чистым одноразовым наконечником добавить 600 мкл буфера для лизиса LB.
3. Перемешать образец на вортексе 5-10 с или пипетированием.
4. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 мин при 15-25ºC.

- Ткани животных и растений

1. Навеску ткани поместить в чистую микропробирку 1.5-2.0 мл.

Примечание: использовать не более 20-30 мг тканей животных (более 10-15 мг селезёнки), не более 50-100 мг свежих тканей растений, не более 20-30 мг сухих тканей растений.

2. Чистым одноразовым наконечником добавить 600 мкл буфера для лизиса LB. Гомогенизировать образец.
3. Сбросить капли коротким центрифугированием.
4. Инкубировать 10 мин при 15-25 ^{0}C.
5. Центрифугировать лизат 30 с, 1000 rcf.

- Цельная кровь

1. 200 мкл образца крови перенести в чистую микропробирку на 1.5-2.0 мл.
2. Чистым одноразовым наконечником добавить 750 мкл буфера для лизиса LB.

Примечание: при выделении из 100 мкл рекомендуется также использовать 750 мкл буфера LB.

3. Перемешать образец на вортексе 5-10 с или пипетированием.
4. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 мин при 15-25 ^{0}C.

2) Нанесение на колонку

1. Перенести не более 800 мкл лизата или супернатанта (в случае тканей) на колонку. Плотно закрыть крышку колонки.
2. 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 или буфера LB.
Примечание: Если объём лизата 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 WB1. Центрифугировать 30 с, 10000 rcf. Удалить фильтрат.
2. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB2. Центрифугировать 30 с, 10000 rcf. Удалить фильтрат.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB2 этанол.

3. Центрифугировать колонку 3 мин, 10000 rcf для полного удаления буфера WB2.

3) Элюция ДНК

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 от 60 до 200 мкл буфера для элюции EB. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15-25 ^{0}C). Центрифугировать 1 мин, 10000 rcf.

- При увеличении объёма элюции увеличивается количество ДНК и снижается концентрация ДНК. Количество ДНК при элюции объёмами 60 и 200 мкл может различаться в 1.5-2 раза.
- Вторая элюция новой аликвотой буфера для элюции ЕВ или повторное нанесение элюата на колонку позволяет дополнительно увеличить количество ДНК.
- Буфер для элюции содержит 0.01 М Tris•HCl (pH 8.0). Элюировать образец также можно ТЕ буфером (0.01 М Tris-HCl, 0.001 М EDTA, pH 8.0-8.5) либо водой (pH 8.0-8.5, pH доводить раствором NaOH).

3. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20°С. Для длительного хранения рекомендуется добавить EDTA (pH 8) до конечной концентрации 0.1-1 мМ.

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

Анализ выделенных ДНК или РНК

Целостность выделенной ДНК можно проверить с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле.
Количество выделенной ДНК из можно оценить с помощью УФ-спектрометрии.
Характерный максимум поглощения для ДНК при λ = 260 нм.
Посчитать концентрацию ДНК (мкг/мл) можно по следующей формуле:
A_{260} * разбавление * 50 мкг/мл.
Характерные соотношения оптической плотности A_{260}/A_{280} ~1.7-2.0.

Условия хранения и транспортировки:

Набор хранить при комнатной температуре (15-25°С). Срок годности см. на упаковке.
Транспортирование набора производить при температуре от +15 до +25°С.