Инструкция по применению

Биолабмикс®

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
E-mail: sales@biolabmix.ru

Набор D-Soils для выделения ДНК из почвы

Кат. номер D-Soils-50, D-Soils-250

Важно!

Набор предназначен только для научно-исследовательских целей.

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с реагентом, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с продуктом. Последняя версия протокола доступна на сайте компании ООО «Биолабмикс» (www.biolabmix.ru).

Протокол обновлён 29.05.2026.

Описание

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК из следующих образцов:

1. Твердые образцы почв и густой ил
2. Жидкие образцы почв (ил с высоким содержанием жидкости)

Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот из предварительно лизированного образца на мембране из диоксида кремния, последующей промывке и элюции очищенного продукта.

Выделенная ДНК может быть использована для проведения ПЦР, ник-трансляции, секвенирования и др.

Состав набора

	D-Soils-50 50 выделений	D-Soils-250 250 выделений
Буфер для суспендирования SB	40 мл	2x100 мл
Буфер для лизиса LB	3 мл	15 мл
Буфер для осаждения PB	10 мл	40 мл
Буфер для сорбции BB	50 мл	2x110 мл
Буфер для промывки WB1	30 мл	2x75 мл
Буфер для промывки WB2 (концентрат)	12 мл	3x20
Буфер для элюции EB	15 мл	60 мл
Пробирки для сбора фильтрата и колонки для сорбции образца	50 шт.	250 шт.

Меры предосторожности

Осторожно! Буферы для сорбции BB и для промывки WB1 содержат раствор хаотропной соли, оказывающий раздражающее и токсичное действие. При работе необходимо соблюдать правила общей и личной техники безопасности. Токсичны при попадании на кожу и внутрь. Вызывают ожоги.

Эксплуатация

Компоненты SB, LB, PB, BB, WB1, WB2, EB стабильны в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения (см. на упаковке) и 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

- Твердотельный термостат, поддерживающий температуру 65 °C;
- Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 13000 rcf;
- Вортекс;
- Вортекс с пенополиуретановым адаптером с ячейками под пробирки 1,5 – 2 мл для гомогенизации образцов;
- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5 и 2 мл.
- Опционально:
  - Пробирки с измельчающей матрицей или шариками для гомогенизации;
  - Гомогенизатор (FastPrep-24™ 5G (MP Biomedicals), TissueRuptor II (QIAGEN) или другой).

Перед началом работы

Подготовка буфера WB2.

- 1 выделение, 1000 мкл WB2.К 200 мкл буфера WB2 (концентрат) добавить 800 мкл этанола (96-100%).
- 50 выделений. К 12 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 48 мл этанола (96-100%), чтобы получить 60 мл буфера WB2.
- 250 выделений. К 20 мл буфера WB2 (концентрат) добавить 80 мл этанола (96-100%), чтобы получить 100 мл буфера WB2.

После добавления этанола плотно закрывать крышку. Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте буфера WB2 непосредственно перед работой, поскольку при хранении готового буфера с этанолом в течение нескольких месяцев этанол может частично испариться.

Протокол выделения ДНК

1) Подготовка образцов.

- Твердые типы почв и густой ил

1. Навеску образца массой 500 мг поместить в центрифужную микропробирку объемом 2 мл.

Примечание: если гомогенизация планируется на автоматическом гомогенизаторе, например, FastPrep-24™ 5G (MP Biomedicals) – поместить навеску в пробирку с измельчающей матрицей.

2. К навеске почвы добавить 750 мкл буфера SB. Перемешать переворачиваниями 4-6 раз или больше, пока все крупные частицы почвы не будут свободно перемещаться в растворе. Убедиться, что на дне нет осадка из частиц почвы.

- Жидкий ил

1. В исходной таре предварительно перемешать отобранную пробу ила до однородного состояния.
2. Дозатором перенести 1 мл ила в пробирку объемом 2 мл.

Примечание: если гомогенизация планируется на автоматическом гомогенизаторе, например, FastPrep-24™ 5G (MP Biomedicals) – поместить навеску в пробирку с измельчающей матрицей.

3. Центрифугировать 5 мин при 12000 rcf. Удалить супернатант.
4. К осадку добавить 750 мкл буфера SB. Интенсивно перемешать переворачиваниями пока осадок не будет полностью ресуспендирован в растворе.

2) Гомогенизация и лизис образцов.

- Гомогенизация при помощи вортекса

1. Зафиксировать пробирки с образцами в адаптере вортекса. Гомогенизировать образцы на вортексе 10 мин.
2. Сбросить капли коротким центрифугированием.
3. Добавить 55 мкл буфера LB. Перемешать на вортексе.
4. Инкубировать 10 мин при 65 °C.
5. Центрифугировать 1 мин при 12000 rcf.
6. Отобрать супернатант и перенести в новую пробирку объемом 1.5 мл.
7. К супернатанту добавить 150 мкл буфера PB. Тщательно перемешать на вортексе.

- Гомогенизация при помощи автоматического гомогенизатора

1. Установить пробирки, содержащие образец и измельчающую матрицу, в гомогенизатор. Запустить протокол измельчения, принятый в лаборатории для соответствующего прибора.
2. Сбросить капли коротким центрифугированием.
3. Добавить 55 мкл буфера LB. Перемешать на вортексе.
4. Инкубировать 10 мин при 65 °C.
5. Центрифугировать 1 мин при 12000 rcf.

6. Отобрать супернатант и перенести в новую пробирку объемом 1.5 мл.
7. К супернатанту добавить 150 мкл буфера PB. Тщательно перемешать на вортексе.

3) Нанесение на колонку.

1. Центрифугировать лизат 5 мин, 12000 rcf. Не захватывая осадок, отобрать супернатант и перенести в чистую пробирку 2 мл.
2. К супернатанту добавить равное количество буфера BB. Перемешать переворачиванием 3-5 раз.
3. Перенести на колонку не более 800 мкл образца. Плотно закрыть крышку колонки.
4. Центрифугировать 30 с, 12000 rcf.

Примечание: если объём лизата больше 800 мкл, повторно нанести избыток на ту же колонку и повторить центрифугирование.

4) Промывка колонки.

1. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB1. Центрифугировать 30 с, 12000 rcf. Удалить фильтрат.
2. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB2. Центрифугировать 30 с, 12000 rcf. Удалить фильтрат.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB2 этанол.

3. Повторно нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB2. Центрифугировать 30 с, 12000 rcf. Удалить фильтрат.
4. Центрифугировать колонку 3 мин, 12000 rcf для полного удаления буфера WB2.

5) 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 100 мкл буфера для элюции EB. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15-25^{0}C). Центрифугировать 1 мин, 12000 rcf.
   - **Важно!** Рекомендуемый объём элюции 100 мкл. При элюции меньшим объёмом требуется аккуратно наносить аликвоту буфера на центр фильтра колонки, иначе возможно снижение выхода ДНК.
   - При элюции в 100 мкл выход ДНК выше, чем при элюции в 60 мкл.
   - Повторная элюция новой аликвотой буфера для элюции EB или элюатом позволяет увеличить выход ДНК на 10-30%. При элюции объёмом менее 100 мкл рекомендуется использовать новую аликвоту буфера для элюции. При элюции объёмом 100 мкл и более допускается повторно нанести элюат на колонку.
   - 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).

3. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20^{0}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 выделенной ДНК

Целостность выделенной ДНК можно проверить с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле.

Количество выделенной ДНК можно оценить с помощью УФ-спектрометрии.

Характерный максимум поглощения для ДНК при λ = 260 нм.

Посчитать концентрацию ДНК (нг/мкл) можно по следующей формуле:

A_{260} * разбавление * 50 нг/мкл.

Характерные соотношения оптической плотности A_{260}/A_{280} ~1.7-2.0.

Примечание: при концентрации ДНК менее 20 нг/мкл рекомендуется провести оценку количества ДНК флуориметрией или ПЦР. При таких концентрациях соотношения оптической плотности могут быть нестабильными.

- При анализе раствора ДНК с помощью УФ-спектрометрии обязательно снимать фон с помощью буфера для элюции ЕВ.
- После снятия фона обязательно провести измерение буфера для элюции ЕВ. Убедиться, что оптическое поглощение около нуля во всём диапазоне измерения. Допускается максимальное оптическое поглощение не более 0.05.

Дополнительные реагенты:

- 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:

Набор для выделения ДНК хранить при температуре от +15 до +25 °С.

Условия транспортировки:

Транспортировку набора, производить при температуре от +15 до +25 °С.