



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 Maxi для выделения ДНК и РНК из реакционных смесей

Кат. номер DR-20-maxi

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 01.10.2024.

Описание

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК и РНК (от 50 до 10000 нг), геномной ДНК из реакционных смесей и водных растворов объёмом до 2 мл. Возможна очистка, например, от dNTP, ферментов, не включившихся низкомолекулярных радиоактивных и флуоресцентных меток и др.

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

Возможна очистка до 1-5 мг ДНК или РНК. Максимальное количество образца НК, которое можно брать для очистки, зависит от длины НК и состава реакционной смеси. Рекомендуется брать для очистки не менее 100 мкг образца ДНК или РНК. При меньшем количестве образца НК рекомендуется использовать другие наборы формата mini (Кат. № DR-10, DR-50, DR-250) или micro (DR-50-micro). Выход ДНК или РНК не более 80% и зависит от типа, длины и количества НК в реакционной смеси. Элюция ДНК или РНК происходит в 1 мл.

Выделенные ДНК и РНК могут быть использованы для ПЦР, транскрипции, ник-трансляции, секвенирования и других гено-инженерных приложениях. Набор не содержит фенола и хаотропных солей, таких как гуанидин тиоцианат и др.

Важно! Раствор выделенных ДНК или РНК можно концентрировать методом осаждения (см. «Осаждение и концентрирование раствора ДНК или РНК») на микроцентрифуге со скоростью центрифугирования 12000 rcf и охлаждением +4 °С. Выход ДНК или РНК после осаждения может достигать 90-100%.

Состав набора

	DR-20-maxi 20 выделений Вариант 1	DR-20-maxi 20 выделений Вариант 2
Раствор для разбавления образца DS	60 мл	60 мл
Буфер для нанесения на колонку PB	4x50 мл	2x100 мл
Буфер для промывки WB (концентрат)	9x10 мл	4x25 мл
Буфер для элюции EBD	60 мл	60 мл
Буфер для элюции EBR	60 мл	60 мл
Колонки для сорбции образца в комплекте с Пробирками для сбора фильтрата	20 шт.	20 шт.
Раствор для осаждения PS1	5 мл	5 мл
Раствор для осаждения PS2	2x10 мл	2x10 мл
Раствор для промывки WS (концентрат)	3 мл	3 мл

Набор DR-20-maxi поставляется в одном из двух вариантов

Эксплуатация

Компоненты: DS, PB, WB, EBD, EBR, PS1, PS2, WS стабильны после вскрытия флаконов при температуре от +15°C до +25°C 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

- Центрифуга для пробирок на 50 мл, бакетный или угловой ротор, скорость 3000 или 14000 gcf;
- **Опционально (Осаждение и концентрирование раствора ДНК или РНК):**
Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 12000 gcf, охлаждение до +4 °C;
- Вортекс;
- Одноканальные дозаторы переменного объема и наконечники для них;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5-2.0 мл;
- Этанол, 96-100% раствор.

Перед началом работы:

- **Подготовка буфера WB.**

- **1 промывка, 10 мл WB.** К 2 мл буфера WB (концентрат) добавить 8 мл этанола (96-100%), чтобы получить 10 мл буфера WB. Перемешать.

- **1 флакон. 20 выделений. Вариант 1.** К 10 мл буфера WB (концентрат) добавить 40 мл этанола (96-100%), чтобы получить 50 мл буфера WB. Перемешать.

- **1 флакон. 20 выделений. Вариант 2.** К 25 мл буфера WB (концентрат) добавить 100 мл этанола (96-100%), чтобы получить 125 мл буфера WB. Перемешать.

- **Опционально (см. «Осаждение и концентрирование раствора ДНК или РНК»).**

- Подготовка раствора для промывки WS (80% этанол).**

- **1 промывка, 500 мкл.** К 100 мкл раствора WS (концентрат, вода тип I) добавить 400 мкл этанола (96-100%).

- **1 флакон. 20 выделений. 15 мл.** К 3 мл раствора WS (концентрат, вода тип I) добавить 12 мл этанола (96-100%), чтобы получить 15 мл буфера WS. Перемешать.

После добавления этанола плотно закрывать крышку. Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте раствора WS, поскольку при хранении буфера с этанолом в течение нескольких месяцев этанол может частично испариться.

Протокол выделения ДНК или РНК.

1) Подготовка образцов.

1. При работе с образцами объемом менее 2 мл довести объем образца до 2 мл раствором для разбавления образца DS.
2. К 2 мл образца добавить 10 мл буфера для нанесения на колонку РВ.
3. Перемешать образец на вортексе 5-10 с или пипетированием.
4. Сбросить капли коротким центрифугированием.

2) Нанесение на колонку.

1. После подготовки образец сразу перенести на колонку не более 12 мл образца. Плотнo закрыть крышку колонки.
2. Центрифугировать 1 мин, 12000 gcf. Удалить фильтрат.

Примечание: если объем образца более 12 мл, повторно нанести избыток на ту же колонку и повторить центрифугирование.

3) Промывка колонки.

1. Нанести на колонку 10 мл буфера для промывки WB. Центрифугировать 1 мин, 12000 gcf. Удалить фильтрат.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB этанол.

2. Центрифугировать колонку 3 мин, 12000 gcf для полного удаления буфера WB.

4) Элюция ДНК или РНК.

1. Перенести колонку в чистую пробирку для сбора элюата (входит в состав набора).
 2. Нанести на центр фильтра колонки 1 мл буфера для элюции ДНК EBD или буфера для элюции РНК EBR. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15–25 °С). Центрифугировать 1 мин, 12000 gcf.
 3. Перенести элюат в чистую пробирку на 1.5 мл (не входит в набор).
 - **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) или 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 mM.
- Примечание:** EDTA может ингибировать ферментативные реакции, например, ПЦР.
- **Буфер для элюции РНК EBR** – вода, очищенная от РНКаз.
 4. Элюат, содержащий ДНК или РНК, хранить при -20°C.

Опционально. Осаждение и концентрирование раствора ДНК или РНК

Для осаждения ДНК или РНК из раствора объёмом 800-1000 мкл использовать микропробирки объёмом 2 мл (не входит в набор).

Предварительно определить количество ДНК или РНК, взятой для осаждения.

Рекомендуется использовать спектрометрические или флуориметрические методы оценки концентрации нуклеиновых кислот.

1. К образцу ДНК или РНК добавить 0.1 объёма (от объёма образца) раствора для осаждения PS1.

2. Перемешать пипетированием или на вортексе 3-5 с.

Примечание: например, при объёме образца НК – 1000 мкл (1 мл) добавить 100 мкл раствора для осаждения PS1. Небольшой избыток PS1 не снижает выход НК.

3. Добавить 0.7 объёма (от объёма образца полученного в п. 1) раствора для осаждения PS2. Перемешать пипетированием или на вортексе 3-5 с.

Примечание: например, при объёме образца НК – 1000 мкл, раствора PS1 – 100 мкл добавить 770 мкл раствора для осаждения PS2. Небольшой избыток PS2 не снижает выход НК.

4. Центрифугировать 15 мин, 12000 gcf при +4 °С. Аккуратно удалить супернатант, не задевая осадок.

Важно! Осадок может быть прозрачным или белым. Поэтому необходимо запомнить или отметить положение пробирки в роторе центрифуги.

5. В пробирку с осадком аккуратно добавить 500 мкл раствора WS. Перемешать, аккуратно перевернув пробирку 1-2 раза, чтобы ополоснуть стенки пробирки.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к раствору WS этанол.

6. Центрифугировать 10 мин, 12000 gcf при +4 °С. Аккуратно удалить супернатант, не задевая осадок.

Важно! Осадок может быть прозрачным или белым. Поэтому необходимо запомнить или отметить положение пробирки в роторе центрифуги.

7. Сушить осадок на воздухе 10-15 мин при Tкомн (15-25 °С).

Важно! не пересушивать осадок, иначе может снизиться растворимость ДНК или РНК.

8. Осадок ДНК растворить в буфере EBD, осадок РНК растворить в буфере EBR.

Примечание: при растворении осадка ДНК или РНК (до 10000 нт) рекомендуется добавлять 0.8-1 мкл буфера EBD или EBR на 1 мкг НК, использованной для осаждения. В таком случае конечная концентрация НК составит 1-1.25 мкг/мкл (1000-1250 нг/мкл).

Примечание: при растворении осадка длинных ДНК или РНК, например, геномной ДНК рекомендуется добавлять 2-4 мкл буфера EBD или EBR на 1 мкг НК, использованной для осаждения. В таком случае конечная концентрация НК составит 0.25-0.5 мкг/мкл (250-500 нг/мкл).

Важно! Если объёма буфера EB недостаточно, чтобы покрыть весь осадок, то увеличить объём буфера EB.

9. Раствор ДНК, хранить при -20°C . Для длительного хранения рекомендуется добавить EDTA (рН 8) до конечной концентрации 0.1-1 мМ.

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

Примечание: Выход ДНК после осаждения составляет 80-100%.

Анализ выделенных ДНК или РНК

ДНК и РНК можно проанализировать с помощью гель-электрофореза в агарозном или полиакриламидном геле.

Количество выделенных ДНК или РНК можно оценить с помощью УФ-спектрометрии.

Характерный максимум поглощения для ДНК и РНК при $\lambda = 260$ нм.

Посчитать концентрацию ДНК или РНК (мкг/мл) можно по следующей формуле:

$A_{260} \cdot \text{разбавление} \cdot 50$ мкг/мл. Для дцДНК

$A_{260} \cdot \text{разбавление} \cdot 33$ мкг/мл. Для оцДНК

$A_{260} \cdot \text{разбавление} \cdot 40$ мкг/мл. Для РНК

Характерные соотношения оптической плотности $A_{260}/A_{280} \sim 1.7-2.0$.

Примечание: в зависимости от количества образца ДНК или РНК в реакционной смеси количество выделенных ДНК или РНК может быть ниже уровня, детектируемого с помощью гель-электрофореза или УФ-спектрометрии. При значениях концентраций образцов менее 10–20 нг/мкл рекомендуется подтвердить полученные значения методами флуориметрии или ПЦР.

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 хранить при температуре от +15 до +25 °С. Срок годности см. на упаковке.

Условия транспортировки:

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

Продукция компании Биолабмикс

Наборы для
выделения
ДНК/РНК



Наборы и смеси
для ПЦР



ОТ и ОТ-ПЦР



Изотермическая
амплификация



ДНК-маркеры



Ферменты



Олиго-
нуклеотиды



Платформа
для синтеза
мРНК



Маркеры
молекулярной
массы белков



Host cell
DNA detection



Контрактное
производство

Собственные
разработки

sales@biolabmix.ru
8 800 600 88 76

www.biolabmix.ru



9001:2015
13485:2016



ПОДПИСЫВАЙТЕСЬ
НА НАШУ ГРУППУ В VK