



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 Micro для выделения ДНК и РНК из реакционных смесей

Кат. номер DR-50-micro, DR-250-micro

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 28.10.2024.

Описание

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК и РНК (от 50 до 10000 нт) из реакционных смесей объёмом до 100 мкл. 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 15-45 мкг ДНК или РНК. Выход ДНК или РНК не более 80% и зависит от типа, длины и количества НК в реакционной смеси. Элюция ДНК или РНК происходит в 15-30 мкл.

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

Состав набора

	DR-50-micro 50 выделений	DR-250-micro 250 выделений
Раствор для разбавления образца DS	15 мл	60 мл
Буфер для нанесения на колонку PB	40 мл	2x100 мл
Буфер для промывки WB (концентрат)	12 мл	3x20 мл
Буфер для элюции EBD	5 мл	15 мл
Буфер для элюции EBR	5 мл	15 мл
Пробирки для сбора фильтрата и колонки для сорбции образца	50 шт.	250 шт.

Эксплуатация

Компоненты: DS, PB, WB, EBD, EBR 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 микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 10000 гcf;
- 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, 500 мкл WB. К 100 мкл буфера WB (концентрат) добавить 400 мкл 96-100% этанола.

1 флакон. 50 выделений. К 12 мл буфера WB (концентрат) добавить 48 мл 96-100% этанола, чтобы получить 60 мл буфера WB.

1 флакон. 250 выделений. К 20 мл буфера WB (концентрат) добавить 80 мл 96-100% этанола, чтобы получить 100 мл буфера WB.

Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте буфера WB, 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 100 мкл довести объем образца до 100 мкл раствором для разбавления образца DS.
2. К аликвоте образца добавить пятикратный избыток буфера для нанесения на колонку. Например, к 100 мкл образца добавить 500 мкл буфера для нанесения на колонку PB.
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 800 мкл образца. Плотно закрыть крышку колонки.
 2. Центрифугировать 30 с, 12000 rcf. Удалить фильтрат.
- Примечание: если объем образца более 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, 12000 rcf. Удалить фильтрат.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB этанол.

2. Повторно нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB. Центрифугировать 30 с, 12000 rcf. Удалить фильтрат.
3. Центрифугировать колонку 3 мин, 12000 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 от 15 мкл до 30 мкл буфера для элюции ДНК EBD или буфера для элюции РНК EBR. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15-25°C). Центрифугировать 2 мин, 12000 rcf.
 - Важно! Рекомендуемый объем элюции 20 мкл. При элюции меньшим объемом требуется аккуратно наносить аликвоту буфера на центр фильтра колонки, иначе возможно снижение выхода РНК.
 - Важно! Если ожидаемый выход НК более 10-20 мкг, то рекомендуемый объем элюции 30 мкл. При элюции меньшим объемом возможно снижение выхода ДНК или РНК.
 - 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 мМ.

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

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

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

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 $\lambda = 260 \text{ нм}$.

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

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

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

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

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

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 $+25^{\circ}\text{C}$. Срок годности см. на упаковке.

Условия транспортировки:

Транспортировку набора, производить при температуре от $+15$ до $+25^{\circ}\text{C}$.