



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 остаточной ДНК

Кат. номер D-Host-100

Описание:

Этот набор предназначен для выделения небольших количеств ДНК из сложных биологических растворов. Набор предназначен только для исследований, разработок и производства и не предназначен для диагностического использования на людях или животных.

В основе «Набора для выделения остаточной ДНК» лежит эффективный метод экстракции ДНК, позволяющий выделять остаточную ДНК в субпикограммовых количествах на миллилитр сложных биологических растворов. Конечные растворы очищенной ДНК не содержат, примесей белков, солей и детергентов, способных мешать проведению ПЦР-анализа.

Состав набора

Компонент	Количество, мл
Протеиназа К	0,15
Буфер для экстракции	30
Раствор для осаждения	55
Буфер для разведения	30
Раствор для промывки	100
TE буфер	20

Необходимые материалы, не входящие в набор:

- Штатив для микропробирок
- Вортекс персональный
- Дозаторы автоматические переменного объема
- Микроцентрифуга
- Микроцентрифужные пробирки вместимостью 1,5 мл
- Наконечники с фильтром на автоматические дозаторы вместимостью 10, 100, 200, 1000 мкл
- Настольный твердотельный термостат
- Гидрофильные салфетки или фильтровальная бумага

Область применения:

- Выделение остаточной ДНК клеточных линий типа *E. coli*, CHO, Vero
- Выделение малых количеств ДНК из смывов и других растворов
- Концентрирование переосаждением малых количеств ДНК.

Рекомендации при работе

1. Рекомендуется использовать образцы с концентрацией белка до 20 мг/мл. Если образцы содержат белок свыше 20 мг/мл, убедитесь, что такие образцы после пробоподготовки не будут ингибировать ПЦР.
2. Высокая чувствительность метода предъявляет повышенные требования к чистоте рабочей поверхности. Перед началом работы обработайте рабочую поверхность и инструменты для защиты от попадания ДНК из окружения.
3. Организуйте свою работу таким образом, чтобы минимизировать количество манипуляций над открытыми пробирками.

Подготовка реагентов

1. Перед началом эксперимента рекомендуется нагреть компоненты набора до комнатной температуры.
2. Разведите протеиназу К в ТЕ буфере 1:10. Например, при выделении ДНК из 50 образцов необходимо добавить 75 мкл протеиназы К к 675 мкл ТЕ буфера (включает 25% дополнительного объема на образец). Раствор протеиназы К должен быть свежеприготовленным для каждого случая выделения.

Описание аналитической методики

1. Приготовление рабочего раствора протеиназы К. Непосредственно перед проведением процедуры раствор протеиназы К из набора реагентов для ПЦР развести в ТЕ-буфере в 10 раз. Раствор протеиназы К должен быть всегда свежеприготовленным.
2. Подготовка образцов. Подписать пробирки вместимостью 1,5 мл для разведения образцов и контроля. Образцы и контроль развести Буфером для разведения либо до концентрации ДНК в пределах аналитического диапазона (1 пг/мл – 10 нг/мл), либо по белку до конечной концентрации ≤ 20 мг/мл до конечного объема 238,5 мкл. Все образцы должны быть разведены как минимум 1:2 (т.е. 1 часть образца и 2 части Буфера для разведения).
3. Добавить в каждую пробирку по 12,5 мкл разведённой протеиназы К. Аккуратно перемешать на вортексе и сбросить капли, используя микро-центрифугу. Инкубировать в течение 30 мин при температуре 60 °С в сухом термостате. (растворы стандартных образцов не обрабатываются протеиназой К).
4. Центрифугировать пробирки в течение 1 мин при 10000 об/мин для устранения конденсата с крышек пробирок.
5. К полученным 250 мкл растворов добавить по 250 мкл Буфера для экстракции. Перемешать на вортексе каждую пробирку 5 сек.
6. Добавить к каждой пробирке по 0,5 мл Раствора для осаждения. Перемешать на вортексе 5 сек. Инкубировать при комнатной температуре в течение 10 мин.
7. Центрифугировать пробирки 15 мин. при 10000 об/мин.

8. Убрать супернатант и оставить пробирки перевернутыми на 2-3 мин. на гидрофильной салфетке. Прижимать пробирки к гидрофильной безворсовой салфетке до полного устранения всех видимых жидкостей.
9. Добавить к каждой пробирке по 0,5 мл Раствора для промывки. Перемешать 5 сек. на вортексе (осадок может сдвинуться с места). Инкубировать при комнатной температуре 20 мин (для достижения лучшего результата несколько раз перемешать в процессе инкубации).
10. Центрифугировать пробирки 5 мин при 10000 об/мин.
11. Убрать супернатант и оставить пробирки перевернутыми на 2-3 мин на гидрофильные салфетки. Прижимать пробирки к гидрофильной безворсовой салфетке до полного устранения всех видимых жидкостей (избегать сильного высушивания самого осадка).
12. Повторить шаги 9 – 11.
13. Растворить осадки в 250 мкл ТЕ буфера, предварительно прогретого до 50 °С. Инкубировать при комнатной температуре в течение 5 мин, периодически помешивая.
14. ДНК готова для последующих применений, таких как количественная ПЦР, гибридизации ДНК или любых других методов, требующих высококачественной очищенной ДНК.

Условия хранения:

Набор хранить при +2 – 8 °С. Раствор протеиназы К А хранить при температуре от -18 до -24 °С. Срок годности 1 год от даты производства.

Условия транспортировки:

Транспортировку набора, включая раствор протеиназы К производить при температуре от +15 до +25 °С не более 14 суток.