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-Fecal для выделения ДНК из фекалий

Кат. номер D-Fecal-50

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 17.09.2026.

Описание

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК из образцов фекалий. На 1 выделение возможно использовать до 50-100 мг образца фекалий.

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

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

Состав набора

	D-Fecal-50 50 выделений
Буфер для суспендирования SB	40 мл
Буфер для лизиса LB	3 мл
Буфер для осаждения PB	10 мл
Буфер для сорбции BB	50 мл
Буфер для промывки WB1	30 мл
Буфер для промывки WB2 (концентрат)	12 мл
Буфер для элюции EB	15 мл
Пробирки для сбора фильтрата и колонки для сорбции образца	50 шт.
Пробирки с измельчающей матрицей для гомогенизации	50 шт.

Меры предосторожности

1. Буферы для сорбции BB и для промывки WB1 содержат раствор хаотропной соли, оказывающий раздражающее и токсичное действие.
2. 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:
  - Гомогенизатор FastPrep-24™ 5G (MP Biomedicals) или аналогичный.

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.

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.

1. Навеску образца фекалий массой не более 50-100 мг поместить в пробирку с матрицей для гомогенизации (входит в состав набора).
2. Добавить 750 мкл буфера SB к образцу.

Примечание: при использовании предварительно замороженного материала – дождитесь оттаивания, прежде чем приступать к гомогенизации.

3. Интенсивно встряхнуть пробирку вручную 4-6 раз, стараясь добиться свободного перемещения биоматериала в растворе.

2) Гомогенизация и лизис образцов.

Важно! Гомогенизация на вортексе проходит более мягко, что позволяет получить на выходе более целостную ДНК. Гомогенизация на гомогенизаторе сильнее повреждает ДНК, однако может повысить её выход в конечном продукте.

- 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 (для гомогенизаторов FastPrep-24 подойдет программа 6.5 м/с, 45 сек., два повтора).
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. Удалить фильтрат.

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 60 мкл. Не рекомендуется использовать меньший объем элюции.
- При элюции в 100 мкл выход ДНК может быть выше на 10-30%, 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 EB: 0.01 M Tris•HCl (pH 8.0), не содержит EDTA.
- Буфер подготовлен методом стерилизующей фильтрации с помощью фильтрации через мембрану с размером пор 0.2 мкм.

3. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20^{0}C. 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: в процессе выделения ДНК происходит удаление более 90-99% примеси РНК, что позволяет точнее определить концентрацию ДНК с помощью УФ-спектрометрии. При концентрации ДНК менее 10-20 нг/мкл рекомендуется провести оценку количества ДНК флуориметрией или ПЦР.

- 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.

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

ISO 9001:2015 13485:2016

ПОДПИСЫВАЙТЕСЬ НА НАШУ ГРУППУ ВК
vk.com/biolabmix

ЗАХОДИТЕ НА НАШ ТЕЛЕГРАМ КАНАЛ
t.me/biolabmix