



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 ДНК из растительного сырья на магнитных частицах

Кат. номер MagPlants-100, MagPlants-1200

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 16.09.2024.

Описание

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК из зерновых, кормовых, технических, декоративных и бахчевых культур, а также из овощей открытого и закрытого грунта.

Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот из предварительно лизированного образца на магнитных частицах на основе оксида железа и оксида кремния, последующей промывке и элюции очищенного продукта.

Выделение ДНК возможно, как ручным способом, с помощью магнитного штатива, так и автоматическим способом, с использованием автоматической станции **Auto-Pure96 (Allsheng)**.

Выделенная ДНК может быть использована для проведения ПЦР.

Состав набора

	MagPlants-100 100 выделений	MagPlants-1200 1200 выделений
Буфер для гомогенизации GB	25 мл	12x25 мл
Буфер для лизиса LB	2x45 мл	24x45 мл
Буфер для осаждения SB	12 мл	12x12 мл
Буфер для сорбции BB	22 мл	12x22 мл
Буфер для промывки WB1	2x45 мл	24x45 мл
Буфер для промывки WB2	2x45 мл	24x45 мл
Буфер для промывки WB3 (концентрат)	2x10 мл	24x10 мл
Буфер для элюции EB	15 мл	12x15 мл
Магнитные частицы M	2x1.1 мл	24x1.1 мл

Меры предосторожности

Осторожно! Буферы GB, LB, SB, BB, WB1, WB2 содержат растворы веществ, оказывающих раздражающее и токсичное действие. При работе необходимо соблюдать правила общей и личной техники безопасности. Токсичен при попадании на кожу и внутрь, оказывает раздражающее действие.

Осторожно! Буфер WB1 содержит изопропанол, оказывающий раздражающее и токсичное действие. Не проводить работы с раствором в непосредственной близости от открытого огня.

При попадании на кожу промойте немедленно большим количеством воды и моющего средства (детергента). При необходимости обратитесь за медицинской помощью.

Внимание! При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые перчатки, и придерживаться техники безопасности при работе с веществами, оказывающими раздражающее действие на кожу и слизистые.

Эксплуатация

Компоненты: GB, LB, SB, BB, WB1, WB2, WB3, EB, M стабильны в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения (см. на упаковке) и достаточной герметизации флаконов.

Внимание! Не нагревать набор выше температуры +25°C, несоблюдение температурного режима хранения и транспортировки снижает эффективность выделения.

Условия работы

Температура окружающей среды от +15 до +25 °C;

Относительная влажность воздуха не более 80 %;

Атмосферное давление 630 – 800 мм. рт. ст.

Материалы и оборудование необходимые для работы

Ручной способ

- Магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок на 1.5-2 мл
- Твердотельный термостат, поддерживающий температуру 60 °C
- Вортекс
- Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 10000 gcf
- Микроцентрифужные пробирки на 1.5-2 мл
- Одноканальные дозаторы переменного объема и наконечники для них
- Перчатки резиновые

Автоматический способ

- Глубоколуночный планшет с V-образными лунками на 2 мл, 6 шт.
- Наконечники для магнитных стержней или гребёнка, 1 шт.
- Одноканальные/многоканальные дозаторы переменного объема и наконечники для них
- Перчатки резиновые

Перед началом работы

Подготовка буфера WB3.

- **1 выделение, 700 мкл.** К 140 мкл буфера WB3 (концентрат) добавить 560 мкл этанола (96–100%).
- **1 флакон.** К 10 мл буфера WB3 (концентрат) добавить 40 мл этанола (96–100%), чтобы получить 50 мл буфера WB3.

После добавления этанола плотно закрывать крышку. Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте буфера WB4, поскольку при хранении буфера с этанолом в течение нескольких месяцев этанол может частично испариться.

Протокол выделения ДНК. Ручной способ

1) Подготовка образцов

- Рекомендуемый вес образца зависит от вида и возраста растения, но не должен превышать 200 мг на одно выделение.
- Для гомогенизации на автоматических станциях или одноразовыми пестиком к навеске образца добавить 200 мкл буфера для гомогенизации GB.
- Гомогенизация в жидком азоте может проводиться без использования буфера для гомогенизации GB.
- После гомогенизации убедиться в том, что в образце не осталось крупных не гомогенизированных частиц.

Важно! Убедитесь, что вы пользуетесь одноразовыми системой гомогенизации либо проведите полное удаление образца из системы гомогенизации после работы, чтобы избежать загрязнения последующих проб.

- При работе с высушенными образцами необходимо учитывать каким способом был подготовлен материал. В случае работы с коллекционными и старыми экземплярами возможно снижение количества и качества выделяемой ДНК за счёт температурной или временной деградации. В таком случае убедитесь, что у Вас есть возможность провести выделение из различных частей растения и провести выделение в нескольких повторах.
- При наличии загрязнений (почва, насекомые и прочее) образцы необходимо промыть в очищенной воде, после удалить остаток жидкости одноразовыми бумажными салфетками.

Важно! Состав растения очень разнообразен и сильно зависит от вида и места произрастания. Помимо плотной клеточной стенки, состоящей из полисахаридов, растения содержат большое количество полифенольных соединений и кислых компонентов которые зачастую приводят к снижению качества и количества выделяемых нуклеиновых кислот. Протокол с использованием буфера для лизиса LB, позволяет удалить белки и полисахариды осаждением с помощью буфера SB.

- Если необходимо поместить образцы тканей на длительное хранение, рекомендуется использовать стабилизатор РНК (St-100) или аналогичные реагенты. Стабилизатор РНК протестирован с листьями, хвоей и молодыми корнями.

2) Лизис образцов

1. В микропробирку с измельчённым образцом добавить 800 мкл LB.
2. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.

Опционально. Удаление примеси РНК

Внимание! При работе с образцами с высокой, концентрацией РНК, либо проведении дальнейших работ чувствительных к наличию примеси РНК рекомендуется провести удаление РНК при помощи РНКазы А (Кат. № ER-500). Для удаления примеси РНК к лизату добавить 5 мкл РНКазы А. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.

3. Инкубировать 10 минут при 60 °С.
4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.

Внимание! При работе с автоматическими гомогенизаторами, использующими матрицу для гомогенизации, перед добавлением буфера SB необходимо удалить матрицу из образца. Для этого центрифугируйте образцы 2 мин, 12000 gcf после отберите весь объём жидкости и перенесите в новую пробирку.

5. Добавить 100 мкл буфера для осаждения SB. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.
6. Охладить на льду. (Инкубировать 10 минут при +4°С).
7. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.
8. Центрифугировать 5 мин, 12000 gcf. Перенести 600 мкл супернатанта, в чистую пробирку.

3) Сорбция образца на магнитных частицах

1. Ресуспендировать магнитные частицы **M** перемешиванием вручную или на вортексе до образования однородной суспензии.
2. К лизату добавить 200 мкл буфера для сорбции BB. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной смеси.
3. Добавить 20 мкл суспензии магнитных частиц, сразу же перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.
4. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.
5. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 2 минуты.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

6. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.

4) Промывка магнитных частиц

1. Добавить в пробирку с магнитными частицами 800 мкл буфера для промывки WB1. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.

2. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 2 минуты.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

3. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.

4. Добавить в пробирку с магнитными частицами 800 мкл буфера для промывки WB2. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.

5. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 2 минуты.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

6. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.

7. Добавить в пробирку с магнитными частицами 800 мкл буфера для промывки WB3. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB3 этанол.

8. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 2 минуты.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

10. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.

11. Не убирая пробирку с магнитного штатива сушить пробирку с магнитными частицами на воздухе 5–15 минут при 15–25 °С или до полного высыхания (устранения запаха спирта).

5) Элюция ДНК

Провести элюцию ДНК по **Варианту 1** (с использованием магнитного штатива) или по **Варианту 2** (с использованием центрифуги). Элюция ДНК по Варианту 2 позволяет убрать посторонние частицы из элюата и получить более чистый раствор ДНК, что не всегда можно сделать при использовании магнитного штатива при ручном выделении ДНК.

5.1) Элюция ДНК. Вариант 1. С использованием магнитного штатива

1. Добавить в пробирку с магнитными частицами 100 мкл буфера для элюции EB. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии. Инкубировать 3 минуты при 60 °С.

Примечание: 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).

2. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 5 мин.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

3. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать, не задевая магнитные частицы, и перенести супернатант, содержащий ДНК, в чистую пробирку.

Важно! При наличии посторонних частиц в элюате центрифугировать образец ДНК 3 мин, 12000 *rcf*. Перенести супернатант, содержащий ДНК, в чистую пробирку.

4. Элюат, содержащий ДНК, хранить при –20°С. Для длительного хранения рекомендуется добавить EDTA (pH 8) до конечной концентрации 0.1–1 мМ.

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

Примечание: Анализ выделенной ДНК можно провести с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле, с помощью УФ-спектрометрии или с помощью ПЦР.

5.2) Элюция ДНК. Вариант 2. С использованием центрифугирования

1. Добавить в пробирку с магнитными частицами 100 мкл буфера для элюции EB. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии. Инкубировать 3 минуты при 60 °С.

Примечание: 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).

2. Центрифугировать 3 мин, 12000 *rcf*. Перенести супернатант, содержащий ДНК, в чистую пробирку.

3. Элюат, содержащий ДНК, хранить при –20°С. Для длительного хранения рекомендуется добавить EDTA (pH 8) до конечной концентрации 0.1–1 мМ.

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

Примечание: Максимальный возможный выход ДНК составляет 5 мкг и зависит от количества и типа образца. Анализ выделенной ДНК можно провести с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле, с помощью УФ-спектрометрии или с помощью ПЦР.

Протокол выделения ДНК и РНК. Автоматический способ. Auto-Pure 96 (Allsheng)

1) Лизис образцов.

Внимание! Гомогенизация и лизис образцов происходит отдельно, не на станции выделения.

Примечание: общие рекомендации по подготовке образца можно прочесть в предыдущем разделе «**Протокол выделения ДНК. Ручной способ**».

- Рекомендуемый вес образца зависит от вида и возраста растения, но не должен превышать 200 мг на одно выделения.
- Для гомогенизации на автоматических станциях или одноразовыми пестикам к навеске образца добавить 200 мкл буфера для гомогенизации GB.
- Гомогенизация в жидком азоте может проводится без использования буфера для гомогенизации GB.
- После гомогенизации убедиться в том, что в образце не осталось крупных не гомогенизированных частиц.

1. В микропробирку с измельчённым образцом добавить 800 мкл LB.
2. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.

Опционально. Удаление примеси РНК

Внимание! При работе с образцами с высокой, концентрацией РНК, либо проведении дальнейших работ чувствительных к наличию примеси РНК рекомендуется провести удаление РНК при помощи РНКазы А (Кат. № ER-500). Для удаления примеси РНК к лизату добавить 5 мкл РНКазы А. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.

3. Инкубировать 10 минут при 60 °С.
4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.

Внимание! При работе с автоматическими гомогенизаторами, использующими матрицу для гомогенизации, перед добавлением буфера SB необходимо удалить матрицу из образца. Для этого центрифугируйте образцы 2 мин, 12000 gcf после отберите весь объём жидкости и перенесите в новую пробирку.

5. Добавить 100 мкл буфера для осаждения SB. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.
6. Охладить на льду. (Инкубировать 10 минут при +4°С).
7. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.
8. Центрифугировать 5 мин, 12000 gcf. Перенести 500 мкл супернатанта, в планшет для автоматической станции выделения.

2) Подготовка станции.

1. Планшет, позиция № 1. Гребёнка. Поместить в чистый 96-луночный планшет гребёнку.

2. Планшет, позиция № 2. Лизис. Добавить в лунку планшета 150 мкл буфера для сорбции ВВ.
3. Планшет, позиция № 3. Промывка №1. Добавить в лунку планшета 700 мкл буфера для промывки WB1.
4. Планшет, позиция № 4. Промывка №2. Добавить в лунку планшета 700 мкл буфера для промывки WB2.
5. Планшет, позиция № 5. Промывка №3. Добавить в лунку планшета 800 мкл буфера для промывки WB3.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB3 этанол.

6. Планшет, позиция № 8. Элюция ДНК. Добавить в лунку планшета 100 мкл буфера для элюции EB.

Примечание: Буфер для элюции – 0.01 М Tris·HCl (рН 8.0).

3) Сорбция и очистка образца на магнитных частицах

1. Добавить в лунку планшета №2 500 мкл лизированного образца, 150 мкл буфера для сорбции ВВ, 20 мкл магнитных частиц М.

Примечание: допускается предварительно подготовить смесь буфера для сорбции ВВ и магнитных частиц. Перемешать на вортексе или вручную до получения однородной суспензии. Не допускается хранить смесь магнитных частиц М и буфера для сорбции ВВ.

1 проба. 150 мкл буфера для сорбции ВВ, 20 мкл магнитных частиц М.

100 проб (+10%). 22 мл буфера для сорбции ВВ, 2.2 мл магнитных частиц М, суммарный объём 24.2 мл.

2. Внести в лунки планшета со смесью ВВ и магнитных частиц, находившемся на позиции № 2 по 500 мкл лизата.
 3. Поместить планшет с лизатом на позицию №2.
 4. Запустить программу «MagPlant» на станции Auto-Pure 96 (Allsheng).
- Примечание:** на данном этапе происходит очистка нуклеиновых кислот.
5. После завершения программы «MagPlant» выделенная ДНК будет находиться в планшете на позиции №8.
 6. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20°C.

Примечание: Максимальный возможный выход ДНК составляет 5 мкг и зависит от количества и типа образца. Анализ выделенной ДНК можно провести с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле, с помощью УФ-спектрометрии или с помощью ПЦР.

Важно! Файлы с программами «MagPlant.txt» для станции Auto-Pure 96 (Allsheng) можно получить следующими способами:

- самостоятельно загрузить на сайте компании ООО «Биолабмикс» (www.biolabmix.ru), для удобства в поисковой строке указать каталожный номер продукта (MagPlants-100);
- связаться с сотрудниками отдела продаж компании ООО «Биолабмикс» (sales@biolabmix.ru, тел. 8-800-600-88-76).

Условия хранения:

Набор для выделения ДНК хранить при температуре от +15 до +25 °С. Магнитные частицы хранить при температуре 2-8 °С. Срок годности см. на упаковке.

Условия транспортировки:

Транспортировку набора, производить при температуре от +15 до +25 °С. Допускается транспортирование при температуре не выше +25°С в течение 14 суток.

Дополнительные реагенты:

- Стерильные пестики для гомогенизации образцов тканей в микропробирках (Кат. № pest-10).
- 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).
- РНКазы А (Кат. № ER-500).
- БиоМастер LR HS-ПЦР (2×) (Кат. № МНО40-100, МНО40-400). Для амплификации длинных фрагментов ДНК от 0.2 до 30 т.п.о.
- БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (Кат. № МНС040-100, МНС040-400). Для амплификации длинных фрагментов ДНК от 0.2 до 30 т.п.о.

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