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-Cells для выделения ДНК из клеток животных и бактерий

Кат. номер D-Cells-10, D-Cells-50, D-Cells-250

Важно!

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).
Набор предназначен только для научно-исследовательских целей.
Протокол обновлён 12.03.2026.

Описание

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК из следующих образцов:

1. культуры клеток млекопитающих
2. культуры клеток грамотрицательных и грамположительных бактерий

Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот из предварительно лизированного образца на мембране из диоксида кремния, последующей промывке и элюции очищенного продукта. Лизис образца происходит в присутствии протеиназы K.

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

Состав набора

	D-Cells-10 10 выделений	D-Cells-50 50 выделений	D-Cells-250 250 выделений	
			Вариант 1	Вариант 2
PBS	2 мл	8.5 мл	45 мл	45 мл
Буфер для лизиса LB	8 мл	40 мл	4x50 мл	2x100 мл
Буфер для промывки WB1	5.5 мл	30 мл	3x50 мл	2x75 мл
Буфер для промывки WB2	5.5 мл	30 мл	3x50 мл	2x75 мл
Буфер для элюции EB	5 мл	15 мл	60 мл	60 мл
Протеиназа K, раствор	240 мкл	1.2 мл	5x1.2 мл	5x1.2 мл
Буфер для растворения лизоцима	400 мкл	2 мл	10 мл	10 мл
Пробирки для сбора фильтрата с колонками для сорбции образца	10 шт	50 шт	250 шт	250 шт

Набор D-Cells-250 поставляется в одном из двух вариантов

Меры предосторожности

Осторожно! Буферы для лизиса LB и для промывки WB1 содержат раствор хаотропной соли, оказывающий раздражающее и токсичное действие. При работе необходимо соблюдать правила общей и личной техники безопасности. Токсичен при попадании на кожу и внутрь. Вызывает ожоги.
Осторожно! Буфер для промывки WB2 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.

Эксплуатация

Компоненты PBS, LB, WB1, WB2, EB, Буфер для растворения лизоцима, протеиназа K 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 активность протеиназы K и эффективность выделения.
Внимание! не хранить смесь буфера для лизиса LB и протеиназы K.

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 56 °C;
- Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 12000 rcf;
- Вортекс;
- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них;
- **Опционально.** Лизоцим, при выделении ДНК из грамположительных бактерий;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5 мл.

Протокол выделения ДНК.

1) Подготовка и лизис образцов.

- Культуры клеток животных. Монослойные культуры.

1. Снять клетки с поверхности культурального пластика методом, используемым в лаборатории, или стандартным методом, рекомендуемым для данной культуры клеток.
2. Перенести образец суспензии клеток (не более 2-3*10^6 клеток) в одноразовую микропробирку.
3. Осадить клетки центрифугированием 3 мин, 1000 rcf. Аккуратно отобрать супернатант. Ресуспендировать осадок клеток в 150 мкл PBS.
4. Чистым одноразовым наконечником добавить 150 мкл буфера для лизиса LB и 20 мкл протеиназы K.
5. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
6. Инкубировать 10 мин при температуре 56ºC.
7. Добавить к образцу 500 мкл буфера для лизиса LB.
8. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
9. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-25^{0}C).

- Культуры клеток животных. Монослойные культуры. Культуральные планшеты.

При работе с 12-, 24- , 48 или 96-луночными планшетами или с культуральной посудой с аналогичной площадью ячейки допускается лизис непосредственно в лунке.

1. Удалить культуральную среду из лунки планшета
2. В лунку 12- или 24-луночного планшета добавить 150 мкл PBS, 250 мкл буфера для лизиса LB,

В лунку 48- или 96-луночного планшета добавить 100 мкл PBS и 100 мкл буфера для лизиса LB.

3. Инкубировать 3-5 минут. Аккуратно, избегая пенообразования, перемешать содержимое лунки пипетированием, убедиться, что клетки открепились от ячейки.
4. Чистым одноразовым наконечником перенести образец в одноразовую микропробирку. Добавить 20 мкл протеиназы K.
5. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
6. Инкубировать 10 мин при температуре 56ºC.
7. Добавить к образцу 400 мкл (12- или 24-луночный планшет) или 600 мкл (48- или 96-луночный планшет) буфера для лизиса LB.

8. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-25^{0}C).

- Культуры клеток животных. Суспензионные культуры.

1. Перенести образец суспензии клеток (не более 2-3*10^6 клеток) в одноразовую микропробирку.
2. Осадить клетки центрифугированием 3 мин, 1000 rcf. Аккуратно отобрать супернатант. Ресуспендировать осадок клеток в 150 мкл PBS.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 150 мкл буфера для лизиса LB и 20 мкл протеиназы K.
4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 мин при температуре 56 ºC.
6. Добавить к образцу 500 мкл буфера для лизиса LB.
7. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-25 ^{0}C).

- Культуры клеток бактерий. Грамотрицательные бактерии.

1. Перенести 0.5-2 мл суспензии ночной культуры клеток (не более 1*10^8 клеток) в одноразовую микропробирку.

Примечание: при работе с культурами клеток E. coli рекомендуется использовать не более 0.5 мл ночной культуры клеток.

2. Осадить клетки центрифугированием 1 мин, 10000 rcf. Аккуратно отобрать супернатант. Ресуспендировать осадок клеток в 150 мкл PBS.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 150 мкл буфера для лизиса LB и 20 мкл протеиназы K.
4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 мин при температуре 56ºC.
6. Добавить к образцу 500 мкл буфера для лизиса LB.
7. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-25^{0}C).

- Культуры клеток бактерий. Грамположительные бактерии

Подготовка раствора лизоцима:

- К навеске лизоцима чистым одноразовым наконечником добавить необходимый объём буфера для растворения лизоцима (**входит в состав набора**), чтобы получить раствор 50 мг/мл.
- Тщательно перемешать на вортексе.

- Инкубировать 30 мин при Ткомн (15-25^{0}C), периодически перемешивая до полного растворения лизоцима.
- Хранить при -20^{0}C.

1. Перенести 0.5-2 мл суспензии ночной культуры клеток (не более 1*10^8 клеток) в одноразовую микропробирку.
2. Осадить клетки центрифугированием 1 мин, 10000 rcf. Аккуратно отобрать супернатант. Ресуспендировать осадок клеток в 150 мкл PBS.
3. Чистым одноразовым наконечником добавить 30 мкл раствора лизоцима (50 мг/мл) в буфере для растворения лизоцима (50 мМ Tris-HCl (pH 8), 10 мМ EDTA (pH 8), 50% глицерин).

Примечание: лизоцим не входит в набор, **буфер для растворения лизоцима поставляется вместе с набором**. Раствор лизоцима хранить в буфере для растворения лизоцима не более 6 месяцев при -20^{0}C.

4. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 10 мин при Ткомн (15-25^{0}C).
5. Чистым одноразовым наконечником добавить 50 мкл буфера для лизиса LB и 20 мкл протеиназы K.
6. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
7. Инкубировать 10 мин при температуре 56ºC.
8. Добавить к образцу 600 мкл буфера для лизиса LB.
9. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (15-25^{0}C).

2) Нанесение на колонку.

1. Перенести 800 мкл лизата на колонку. Плотно закрыть крышку колонки.
2. Центрифугировать 30 с, 12000 rcf. Удалить фильтрат.

Примечание: если после центрифугирования часть раствора осталась на колонке, повторить центрифугирование увеличив время и/или скорость центрифугирования, не добавляя новую порцию образца или буфера LB.

Примечание: если объём лизата больше 800 мкл, повторно нанести избыток на ту же колонку и повторить центрифугирование.

3) 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.
3. Центрифугировать колонку 3 мин, 12000 rcf для полного удаления буфера WB2.

4) 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 200 мкл буфера для элюции EB. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15-25^{0}C). Центрифугировать 1 мин, 12000 rcf.

- Рекомендуемый объём элюции 100 мкл. При элюции меньшим объёмом требуется аккуратно наносить аликвоту буфера на центр фильтра колонки, иначе возможно снижение выхода ДНК.
- При элюции в 100-200 мкл выход ДНК 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

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

Целостность выделенной ДНК можно проверить с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле.

Количество выделенной ДНК можно оценить с помощью УФ-спектрометрии или флуориметрии.

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.

- 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 комнатной температуре (15-25 °C).

Раствор протеиназы К хранить при температуре от -20 °C.

Срок годности см. на упаковке.

Условия транспортировки:

Транспортировку набора производить при комнатной температуре (15-25 °C).

Транспортировку раствора протеиназы К производить при комнатной температуре (15-25 °C).

Допускается транспортирование при температуре не выше +25°C в течение 14 суток.