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 для выделения ДНК и РНК из агарозного геля

Кат. номер N-Gel-10, N-Gel-50, N-Gel-250

**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 02.04.2025.

**Описание**

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК и РНК, из вырезанных фрагментов агарозного геля с массой до 200 мг и содержанием агарозы до 3 %.

Принцип действия набора основан на селективной сорбции ДНК и РНК из предварительно растворенного образца на мембране из диоксида кремния, последующей промывке и элюции очищенного продукта. Ёмкость колонки составляет до 50-200 мкг суммарной РНК или плазмидной ДНК (до 10 тыс. н.т.), до 15-50 мкг геномной ДНК. Выход ДНК или РНК будет зависеть от типа, длины и количества фрагмента НК, вырезанного из геля. Поскольку очистка НК происходит из геля, а не из раствора, то максимальная ёмкость колонки может быть не достигнута. Элюция ДНК или РНК происходит в 60 мкл.

Выделенный материал может быть использован для проведения ПЦР, секвенирования и дальнейших генно-инженерных работ.

**Состав набора**

| | N-Gel-10<br>10 выделений | N-Gel-50<br>50 выделений | N-Gel-250<br>250 выделений | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Вариант 1 | Вариант 2 |
| Буфер для растворения агарозы PB | 8 мл | 40 мл | 4x50 мл | 2x100 мл |
| Буфер для промывки WB (концентрат) | 2.4 мл | 12 мл | 6x10 мл | 3x20 мл |
| Буфер для элюции ДНК EBD | 5 мл | 15 мл | 60 мл | 60 мл |
| Буфер для элюции РНК EBR | 5 мл | 15 мл | 60 мл | 60 мл |
| Изопропанол | 3 мл | 15 мл | 60 мл | 60 мл |
| 3 М ацетат натрия, pH 5.5 | 0.2 мл | 1 мл | 5 мл | 5 мл |
| Пробирки для сбора фильтрата с колонками для сорбции образца | 10 шт. | 50 шт. | 250 шт. | 250 шт. |

Набор N-Gel-250 поставляется в одном из двух вариантов

**Меры предосторожности**

**Осторожно!** Буфер для растворения агарозы PB содержит 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. При попадании на кожу промойте немедленно большим количеством воды и моющего средства (детергента). При необходимости обратитесь за медицинской помощью.

**Эксплуатация**

Компоненты: PB, WB, EBD, EBR, изопропанол, ацетат натрия стабильны в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения (см. на упаковке) и достаточной герметизации флаконов.

**Внимание!** При охлаждении буфера PB ниже +15 °C, возможно, выпадения осадка. Для растворения осадка инкубировать буфер PB при 25-50 °C периодически перемешивая до полного растворения осадка.

**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**

- Термошейкер или твердотельный термостат, поддерживающий температуру 50±1 °C;
- Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 10000 rcf;
- Лабораторные весы с дискретностью не ниже, чем 10 мг;
- Трансиллюминатор с источником ультрафиолетового излучения и защитным стеклом;
- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них;

- Этанол, 96-100% раствор;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5-2 мл.

**Перед началом работы**

Подготовка буфера WB.

- **1 промывка, 500 мкл WB**.К 100 мкл буфера WB (концентрат) добавить 400 мкл этанола (96-100%).
- **10 выделений.** К 2.4 мл буфера WB (концентрат) добавить 9.6 мл этанола (96-100%), чтобы получить 12 мл буфера WB.
- **50 выделений**. К 12 мл буфера WB (концентрат) добавить 48 мл этанола (96-100%), чтобы получить 60 мл буфера WB.
- **250 выделений. Вариант 1**. К 10 мл буфера WB (концентрат) добавить 40 мл этанола (96-100%), чтобы получить 50 мл буфера WB.
- **250 выделений. Вариант 2**. К 20 мл буфера WB (концентрат) добавить 80 мл этанола (96-100%), чтобы получить 100 мл буфера WB.

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

**Протокол выделения ДНК/РНК.**

1) Подготовка и взвешивание образцов

1. Подготовить и подписать микропробирки для образцов.
2. Поместить лист агарозного геля на рабочую поверхность трансиллюминатора и включить УФ-лампу.

**Осторожно!** Прямое попадание УФ-лучей на незакрытые участки тела приводит к серьезным повреждениям кожи и глаз. Перед включением УФ-лампы убедитесь, что кожа рук закрыта, а стекло трансиллюминатора опущено и защищает глаза оператора и окружающих людей. Используйте перчатки с длинной манжетой и халаты с длинными рукавами.

3. При помощи чистого скальпеля или аналогичного инструмента вырезать фрагмент геля, соответствующий интересующему фрагменту ДНК или РНК, не затрагивая другие фрагменты.
4. Взвесить вырезанный фрагмент геля. Объём 100 мг геля равен 100 мкл.

**Примечание:** не использовать более 200 мг геля для выделения ДНК или РНК.

2) Растворение геля и нанесение на колонку

1. Добавить в пробирку с образцом агарозного геля 3 объёма буфера для растворения агарозы PB (на 100 мг геля 300 мкл буфера PB).
2. Инкубировать при 50°C, 10 мин периодически перемешивая.
3. После инкубации тщательно перемешать образец вручную или на вортексе до тех пор, пока смесь в пробирке не станет однородной. Убедиться, что гель полностью растворился.

   **Примечание:** если гель не полностью растворился повторить инкубацию при 50°C, 10 мин.

   **Примечание:** буфер PB содержит pH-индикатор. Если после растворения образца геля в буфере PB раствор остался ярко-жёлтым, то образец пригоден для нанесения на колонку. Если раствор посветлел или стал розовым, то к образцу добавить 10 мкл 3 М ацетата натрия pH 5.5 (входит в состав набора), чтобы раствор стал ярко-жёлтым.
4. Добавить 1 объем изопропанола (входит в состав набора) на 1 объем геля.
5. Перенести не более 800 мкл образца на колонку. Центрифугировать 30 с, 10000 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.

   **Примечание:** если объём образца после растворения геля и добавления изопропанола 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 WB. Центрифугировать 30 с, 10000 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, 10000 rcf. Удалить фильтрат.
3. Центрифугировать колонку 3 мин, 10000 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 60 мкл буфера для элюции ДНК EBD или буфера для элюции РНК EBR. Инкубировать 3 мин при комнатной температуре (15-25°C). Центрифугировать 2 мин, 10000 rcf.
   - 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) либо водой (pH 8.0-8.5, pH доводить раствором NaOH).
   - Буфер для элюции РНК EBR – вода, очищенная от РНКаз.

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

**Анализ выделенной ДНК или РНК**

Анализ выделенных ДНК или РНК можно провести с помощью ПЦР или ОТ-ПЦР соответственно, а также с помощью УФ-спектрометрии, флуориметрии, агарозного или полиакриламидного гель-электрофореза.

**Примечание:** Количество выделенных ДНК или РНК может быть ниже уровня, детектируемого с помощью гель-электрофореза в агарозном геле или УФ-спектрометрии.

**Дополнительные реагенты:**

В каталоге ООО «Биолабмикс» представлены реагенты и материалы полезные при выделении ДНК и её анализе.

- 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 и РНК хранить при температуре от +15 до +25 °С. Срок годности см. на упаковке.

**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 В ВК