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-Plants для выделения ДНК из растений

Кат. номер D-Plants-50, D-Plants-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 02.04.2026.

Описание

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК из следующих образцов:
1. Листья, хвоя, тычинки, зелёные части растений
2. Корни, стебли, кора
3. Плоды, ягоды, семена
4. Мхи, лишайники
5. Одноклеточные водоросли

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

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

Для гомогенизации образцов тканей могут быть использованы одноразовые, стерильные пестики (Кат. № pest-10), которые присутствуют в каталоге ООО «Биолабмикс». Пестики не входят в состав набора.

Состав набора

	D-Plants -50 50 выделений	D-Plants-250 250 выделений Вариант 1	D-Plants-250 250 выделений Вариант 2
Буфер для лизиса LB	50 мл	4x60 мл	2x120 мл
Буфер для нанесения на колонку BB	50 мл	4x60 мл	2x120 мл
Буфер для промывки WB	60 мл	5x60 мл	3x100 мл
Буфер для элюции EB	15 мл	60 мл	60 мл
РНКаза А, раствор (10 мг/мл)	300 мкл	2x700 мкл	2x700 мкл
Пробирки для сбора фильтрата и колонки для сорбции образца	50 шт.	250 шт.	250 шт.

*Набор D-Plants-250 поставляется в одном из двух вариантов

Меры предосторожности

Осторожно! Буфер WB 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: LB, WB, BB, EB, РНКаза А стабильны в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения (см. на упаковке) и достаточной герметизации флаконов.
Внимание! Не нагревать набор выше температуры +25°С, несоблюдение температурного режима хранения и транспортировки снижает активность РНКазы А и эффективность выделения.

Условия работы

Температура окружающей среды от +15 до +25 °С;
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 °С;
- Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 12000 rcf;
- Вортекс;
- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5 мл.

Протокол выделения ДНК

1) Подготовка образцов.

Внимание! 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.

Внимание! При работе с твёрдыми образцами убедитесь, что вы пользуетесь одноразовыми системой гомогенизации либо проведите полное удаление образца из системы гомогенизации после работы, чтобы избежать загрязнения последующих проб.

Внимание! 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.

- Листья, хвоя, тычинки и подобные части растений.

При работе с мягкими частями растений рекомендуется использовать свежесрезанные образцы, лиофилизированные образцы, замороженные образцы в стабилизаторе РНК (St-100).

Вид образца	Рекомендованный масса образца на 1 выделение
Свежие образцы	Не более 100 мг
Замороженные образцы	Не более 100 мг
Образцы в стабилизаторе РНК	Не более 100 мг
Хвоя	Не более 100 мг
Сухие образцы	Не более 30 мг
Тычинки (полностью)	Не более 50 мг

- Корни, стебли, кора.

При работе с твёрдыми образцами рекомендуется использовать механические гомогенизаторы либо мельницы. Выделение ДНК возможно только из хорошо гомогенизированных образцов. Снижение качества гомогенизации приводит к снижению выхода ДНК.

Вид образца	Рекомендованный масса образца на 1 выделение
Корни	Не более 30 мг
Кора	Не более 50 мг
Ветви	Не более 50 мг

- Плоды, ягоды, семена.

При работе с образцами семян рекомендуется использовать механические гомогенизаторы либо мельницы. Выделение ДНК возможно только из хорошо гомогенизированных образцов. Снижение качества гомогенизации приводит к снижению выхода ДНК.

При работе с мягкими образцами их можно высушить с помощью этилового или изопропилового спирта.

1. Перенести навеску в одноразовую пробирку на 1.5 мл. К навеске добавить 800 мкл спирта. Образец тщательно гомогенизировать с помощью одноразового пестика.
2. Центрифугировать 1 мин, 10000 rcf. Удалить супернатант, не задевая осадок.
3. Повторно добавить 800 мкл спирта. Повторно гомогенизировать образец, допускается использовать пестик повторно.
4. Центрифугировать 1 мин, 10000 rcf. Удалить супернатант, не задевая осадок.
5. Осадок сушить 15 мин комнатной температуре.

Вид образца	Рекомендованный масса образца на 1 выделение
Плоды свежие	Не более 50 мг
Ягоды свежие	Не более 50 мг
Семена	Не более 50 мг
Плоды сухие	Не более 30 мг
Ягоды сухие	Не более 30 мг

- Мхи, лишайники.

При работе с мхами и лишайниками убедится, что качественно удалён субстрат, к которому крепился образец. В противном случае в выделенном образце будет присутствовать ДНК субстрата.

Вид образца	Рекомендованный масса образца на 1 выделение
Мох	Не более 30 мг
Лишайник	Не более 30 мг

Убедитесь, что при лизисе весь образец будет помещён в буфер LB для лизиса.

- Грибы.

При работе с плотными образцами грибов рекомендуется использовать механические гомогенизаторы либо мельницы. Выделение ДНК возможно только из хорошо гомогенизированных образцов. Снижение качества гомогенизации приводит к снижению выхода ДНК.

При работе с мягкими образцами их можно высушить с помощью этилового или изопропилового спирта.

1. Перенести навеску в одноразовую пробирку на 1.5 мл. К навеске добавить 800 мкл спирта. Образец тщательно гомогенизировать с помощью одноразового пестика.

2. Центрифугировать 1 мин, 10000 rcf. Удалить супернатант, не задевая осадок.
3. Повторно добавить 800 мкл спирта. Повторно гомогенизировать образец, допускается использовать пестик повторно.
4. Центрифугировать 1 мин, 10000 rcf. Удалить супернатант, не задевая осадок.
5. Осадок сушить 15 мин комнатной температуре.

Вид образца	Рекомендованный масса образца на 1 выделение
Грибы свежие	Не более 30 мг
Грибы сухие	Не более 15 мг

- Одноклеточные водоросли.

При работе с суспензиями водорослей рекомендуется осадить образцы центрифугированием при 300-1000 rcf (в зависимости от вида образца). В случае если образец при центрифугировании плохо осаждается добавить 1/2 объёма 96% этанола от объёма образца. Полученный осадок промыть 80% этанолом. Центрифугировать 1 мин, 10000 rcf. Удалить супернатант, не задевая осадок.

Вид образца	Рекомендованный масса образца на 1 выделение
Суспензия одноклеточных водорослей	Не более 200 мкл

2) Гомогенизация и лизис образцов.

- Гомогенизация в жидком азоте.

1. Отобрать образец тканей растений. При работе с образцами в стабилизаторе РНК (St-100) осушить образец с помощью чистой салфетки. Взвесить образец.
2. Полностью покрыть образец жидким азотом, тщательно гомогенизировать образец.

Примечание: качество гомогенизации влияет на выход ДНК. Рекомендуется добиться получения однородной суспензии образца.

3. Быстро и аккуратно перенести измельчённый образец в чистую пробирку, содержащую 750 мкл буфера для лизиса LB, тщательно перемешать.
4. Инкубировать 10 минут, 65°C. Охладить образец до комнатной температуры.

- Гомогенизация с использованием одноразовых пестиков.

1. Отобрать образец тканей растений. При работе с образцами в стабилизаторе РНК (St-100) осушить образец с помощью чистой салфетки. Взвесить образец.
2. Быстро и аккуратно перенести образец в чистую пробирку, содержащую 750 мкл буфера для лизиса LB.
3. Одноразовым пестиком тщательно перетереть до образования насыщенного цветного раствора.

Примечание: качество гомогенизации влияет на выход ДНК. Рекомендуется добиться получения однородной суспензии образца.

Примечание: одноразовые, стерильные пестики (Кат. № pest-10) присутствуют в каталоге ООО «Биолабмикс». Пестики не подходят для гомогенизации твёрдых образцов растений, например, корни, стебли, кора.

4. Инкубировать 10 минут, 65°C. Охладить образец до комнатной температуры.

- Гомогенизация с использованием механического гомогенизатора.

1. Отобрать образец тканей растений. При работе с образцами в стабилизаторе РНК (St-100) осушить образец с помощью чистой салфетки. Взвесить образец.
2. Быстро и аккуратно перенести образец в чистую пробирку с винтовой крышкой, содержащую 750 мкл буфера для лизиса LB и, если требуется, матрицу для гомогенизации.
3. Измельчить используя механический гомогенизатор тканей, например, FastPrep-24™ 5G (MP Biomedicals), TissueRuptor II (QIAGEN).

Примечание: при использовании матрицы для гомогенизации (порошок или шарики) её количество должно быть таким, чтобы буфер для лизиса LB полностью покрывал матрицу для гомогенизации и образец ткани. Если количество буфера для лизиса LB недостаточно, то увеличить объём буфера для лизиса LB либо уменьшить количество матрицы для гомогенизации.

4. Инкубировать 10 минут, 65°C. Охладить образец до комнатной температуры.

3) Нанесение на колонку.

1. Центрифугировать лизат 5 мин, 12000 rcf. Отобрать супернатант и перенести в чистую пробирку.

Примечание: при выделении из зелёных частей растений зелёный пигмент образует отдельную верхнюю фазу, отбор супернатанта производить, не задевая зелёный пигмент.

2. Добавить 5 мкл РНКазы А. Инкубировать 10 мин, 15-25 °C.
3. Добавить равный объём буфера для нанесения на колонку BB, тщательно перемешать. Инкубировать 1 минуту при комнатной температуре.
4. Нанести не более 800 мкл лизата на колонку. Плотно закрыть крышку колонки.
5. 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.

4) Промывка колонки.

1. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB. Центрифугировать 30 с, 12000 rcf. Удалить фильтрат.
2. Повторно нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB. Центрифугировать 30 с, 12000 rcf. Удалить фильтрат.
3. Центрифугировать колонку 3 мин, 12000 rcf для полного удаления буфера WB.

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 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

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: 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 комнатной температуре (15-25 °C).
Раствор РНКазы А хранить при температуре -20 °C.
Срок годности см. на упаковке.

Условия транспортировки:

Транспортировку набора производить при комнатной температуре (15-25 °C).
Транспортировку раствора РНКазы А производить при комнатной температуре (15-25 °C).
Допускается транспортирование при температуре не выше +25°C в течение 14 суток.