

Информация о продукте

Набор для выделения ДНК и РНК из реакционных смесей DR-10, DR-50, DR-250

Важно!

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с реагентом, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с продуктом.

Наборы предназначены только для научно-исследовательских целей.

Протокол обновлён 06.04.2023.

1. Описание продукта

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК и РНК (от 50 до 10000 нт) из реакционных смесей. Возможна очистка, например, от dNTP, ферментов, не включившихся низкомолекулярных радиоактивных и флуоресцентных меток и др.

Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот из предварительно лизированного образца на кремниевой мембране, последующей промывке и элюции очищенного продукта. Возможна очистка до 10-20 мкг ДНК или РНК. Объём образца реакционной смеси на 1 выделение до 100 мкл

Выделенные ДНК и РНК могут быть использованы для ПЦР, транскрипции, нуклеотидного секвенирования и других генно-инженерных приложениях.

Набор не содержит фенола и хаотропных солей, таких как гуанидин тиоцианат и др.

2. Состав набора

	DR-10 10 выделений	DR-50 50 выделений	DR-250 250 выделений
Буфер для нанесения на колонку PB	5.5 мл	30 мл	2x80 мл
Буфер для промывки WB (концентрат)	1.1 мл	6 мл	2x14 мл
Буфер для элюции EBD	5 мл	15 мл	50 мл
Буфер для элюции EBR	5 мл	15 мл	50 мл
Пробирки для сбора фильтрата и колонки для сорбции образца	10 шт	50 шт	250 шт



Биолабмикс®

3. Условия хранения

Набор хранить при комнатной температуре (15-25 °С). Срок годности см. на упаковке.

4. Эксплуатация

Компоненты: PB, WB, EBD, EBR стабильны после вскрытия флаконов при температуре от +15°С до +25°С в течение всего срока годности при условии достаточной герметизации флаконов.

5. Условия работы

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

Относительная влажность воздуха не более 80 %;

Атмосферное давление 630 – 800 мм. рт. ст.

6. Условия транспортировки

Транспортирование набора производить при температуре от +15 до +25 °С.

7. Оборудование и материалы, не входящие в набор

- Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 10000 rcf;
- Вортекс;
- Одноканальные дозаторы переменного объема и наконечники для них;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5 мл;
- Этанол, 96-100% раствор.

8. Перед началом работы

- **Подготовка буфера WB.**

1 выделение, 500 мкл WB. К 100 мкл буфера WB (концентрат) добавить 400 мкл этанола.

10 выделений. К 1.1 мл буфера WB (концентрат) добавить 4.4 мл этанола, чтобы получить 5.5 мл буфера WB.

50 выделений. К 6 мл буфера WB (концентрат) добавить 24 мл этанола, чтобы получить 30 мл буфера WB.

250 выделений. К 14 мл буфера WB (концентрат) добавить 56 мл этанола, чтобы получить 70 мл буфера WB.

Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте буферов PB и WB, поскольку при хранении буфера с этанолом в течение нескольких месяцев этанол может частично испариться.

9. Протокол выделения ДНК или РНК.

9.1. Подготовка образцов.

1. К аликвоте образца добавить пятикратный избыток буфера для нанесения на колонку. Например, к 20 мкл образца добавить 100 мкл буфера для нанесения на колонку РВ.
2. Перемешать образец на вортексе 5-10 с или пипетированием.
3. Сбросить капли коротким центрифугированием.

9.2. Нанесение на колонку.

1. После подготовки образец сразу перенести на колонку. На колонку нанести не более 800 мкл образца. Плотнo закрыть крышку колонки.
2. Центрифугировать 30 с, 10000 gcf. Удалить фильтрат.

Примечание: Если объём образца более 800 мкл, повторно нанести избыток на ту же колонку и повторить центрифугирование.

9.3. Промывка колонки.

1. Нанести на колонку 500 мкл буфера для промывки WB. Центрифугировать 30 с, 10000 gcf. Удалить фильтрат.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB этанол.

2. Центрифугировать колонку 3 мин, 10000 gcf для полного удаления буфера WB.

9.4. Элюция ДНК или РНК

1. Перенести колонку в новую микропробирку на 1.5-2 мл (не входит в состав набора). Плотнo 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 °С). Центрифугировать 1 мин, 10000 gcf.

- Буфер для элюции EBD содержит 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).
- Для длительного хранения ДНК рекомендуется добавить EDTA (pH 8.0) до конечной концентрации 0.1-1 mM.

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

- Буфер для элюции РНК EBR – вода, очищенная от РНКаз.
3. Элюат, содержащий ДНК или РНК, хранить при -20 °С.



Биолабмикс®

10. Анализ выделенных ДНК или РНК

ДНК и РНК можно проанализировать с помощью гель-электрофореза в агарозном или полиакриламидном геле.

Количество выделенных ДНК или РНК можно оценить с помощью УФ-спектрометрии.

Характерный максимум поглощения для ДНК и РНК при $\lambda = 260$ нм.

Посчитать концентрацию ДНК или РНК (мкг/мл) можно по следующей формуле:

$A_{260} \cdot \text{разбавление} \cdot 50$ мкг/мл. Для дцДНК

$A_{260} \cdot \text{разбавление} \cdot 33$ мкг/мл. Для оцДНК

$A_{260} \cdot \text{разбавление} \cdot 40$ мкг/мл. Для РНК

Характерные соотношения оптической плотности $A_{260}/A_{280} \sim 1.7-2.0$.

Примечание: в зависимости от количества образца ДНК или РНК в реакционной смеси количество выделенных ДНК или РНК может быть ниже уровня, детектируемого с помощью гель-электрофореза или УФ-спектрометрии.

ООО «Биолабмикс»
630090 г. Новосибирск,
Ул. Инженерная, 28
Тел.: (383) 363-51-91
www.biolabmix.ru
sales@biolabmix.ru