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 и РНК из реакционных смесей

Кат. номер 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 12.12.2023.

Описание

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 низкомолеклярных 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 50-200 мкг ДНК или РНК. Объём образца реакционной смеси на 1 выделение до 100 мкл. Выход ДНК или РНК не более 80%.

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

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

Состав набора

	DR-10 10 выделений	DR-50 50 выделений	DR-250 250 выделений	
			Вариант 1	Вариант 2
Буфер для нанесения на колонку PB	5.5 мл	30 мл	4x50 мл	2x100 мл
Буфер для промывки WB (концентрат)	1.1 мл	6 мл	3x10 мл	2x15 мл
Буфер для элюции EBD	5 мл	15 мл	60 мл	60 мл
Буфер для элюции EBR	5 мл	15 мл	60 мл	60 мл
Пробирки для сбора фильтрата и колонки для сорбции образца	10 шт.	50 шт.	250 шт.	250 шт.

Набор DR-250 поставляется в одном из двух вариантов

Эксплуатация

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

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

- Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 10000 rcf;
- Вортекс;
- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5-2.0 мл;
- Этанол, 96-100% раствор.

Перед началом работы

- Подготовка буфера WB.

  1 выделение, 500 мкл WB. К 100 мкл буфера WB (концентрат) добавить 400 мкл 96-100% этанола.

  10 выделений. К 1.1 мл буфера WB (концентрат) добавить 4.4 мл 96-100% этанола, чтобы получить 5.5 мл буфера WB.

  50 выделений. К 6 мл буфера WB (концентрат) добавить 24 мл 96-100% этанола, чтобы получить 30 мл буфера WB.

  250 выделений. Вариант 1. К 10 мл буфера WB (концентрат) добавить 40 мл 96-100% этанола, чтобы получить 50 мл буфера WB.

  250 выделений. Вариант 2. К 15 мл буфера WB (концентрат) добавить 60 мл 96-100% этанола, чтобы получить 75 мл буфера WB.

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

Протокол выделения ДНК или РНК.

- 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 PB.
2. Перемешать образец на вортексе 5-10 с или пипетированием.
3. Сбросить капли коротким центрифугированием.

- Нанесение на колонку.

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

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

- 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. Центрифугировать колонку 3 мин, 10000 rcf для полного удаления буфера WB.

- 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 1 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) или 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 мМ.

  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°C.

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 λ = 260 нм.

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

A_{260} * разбавление * 50 мкг/мл. Для дцДНК

A_{260} * разбавление * 33 мкг/мл. Для оцДНК

A_{260} * разбавление * 40 мкг/мл. Для РНК

Характерные соотношения оптической плотности A_{260}/A_{280} ~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.

Условия хранения и транспортировки:

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

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