



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/РНК методом осаждения с соосадителем

Кат. номер PN-100

Важно!

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

Протокол обновлён 24.10.2023.

Описание

Набор предназначен для выделения и очистки ДНК/РНК из следующих образцов:

1. Культуры эукариотических клеток;
2. Культуры клеток грамотрицательных и грамположительных бактерий;
3. Мазки или соскобы эпителиальных клеток;
4. Вирусы.

Буфер для лизиса позволяет разрушать стенки клеток, высвобождая нуклеиновые кислоты. На следующих этапах происходит осаждение ДНК/РНК, промывка и растворение осадка нуклеиновых кислот.

Примечание: буфер для лизиса содержит соосадитель. Использование дополнительного соосадителя не требуется.

Важно! Для получения чистой ДНК или РНК рекомендуется обработка РНКазой или ДНКазой соответственно.

- Выделенная ДНК может быть использована для ПЦР и других работ.
- Выделенная РНК может быть использована для ОТ-ПЦР и других работ.

Состав набора

PN-100 100 выделений	
Буфер для лизиса LB	2x50 мл
Буфер для осаждения ДНК/РНК PB	2x50 мл
Буфер для промывки WB (концентрат)	4x10 мл
Буфер для растворения ДНК/РНК SB	15 мл

Меры предосторожности

Осторожно! Буферы для лизиса LB 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.

Осторожно! Буфер для осаждения ДНК/РНК PB 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.

Внимание! При работе с биологическими жидкостями следует надевать одноразовые резиновые перчатки, так как исследуемый материал является потенциально инфицированным, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции. Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

Эксплуатация

Компоненты: LB, PB, WB, SB стабильны после вскрытия флаконов при температуре от +2°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 гcf;
- Вортекс;
- Одноканальные дозаторы переменного объема и наконечники для них;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки на 1.5 мл;
- Этанол, 96–100% раствор;

Опционально:

Твердотельный термостат, поддерживающий температуру 65±1°C;

Опционально:

- Лизоцим, при выделении ДНК из грамположительных бактерий.

Перед началом работы:

1) Подготовка буфера LB.

Если в буфере LB образовался осадок во время хранения. Инкубировать буфер при 30–50°C до растворения осадка, периодически перемешивая.

2) Подготовка буфера WB.

- 1 выделение, 500 мкл WB.

К 100 мкл буфера WB (концентрат) добавить 400 мкл этанола.

- 100 выделений.

К 10 мл буфера WB (концентрат) добавить 40 мл этанола, чтобы получить 50 мл буфера WB.

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

Если планируется выделять ДНК из грамположительных бактерий, приготовить раствор лизоцима с концентрацией 50 мг/мл в ТЕ буфере (0.01 M Tris·HCl, 0.001 M EDTA, pH 8.0).

Протокол выделения ДНК/РНК.

1) Подготовка и лизис образцов.

Осадок культур эукариотических и бактериальных клеток.

1. Осадок клеток ресуспендировать в 50 мкл PBS.

Примечание: не использовать более $5 \cdot 10^6$ клеток млекопитающих или лимфоцитов и более $1 \cdot 10^9$ клеток бактерий.

Примечание: при выделении ДНК/РНК из грамположительных бактерий добавить 30 мкл раствора лизоцима (50 мг/мл) в ТЕ буфере (0.01 M Tris·HCl, 0.001 M EDTA, pH 8.0). Инкубировать 10 мин при Tкомн (15–25°C).

2. Чистым одноразовым наконечником добавить 600 мкл буфера для лизиса LB.

Примечание: при лизисе более $1 \cdot 10^6$ клеток млекопитающих или лимфоцитов и более $1 \cdot 10^7$ клеток бактерий необходимо увеличить количество буфера для лизиса. Например, при лизисе более $1 \cdot 10^6$ клеток млекопитающих на каждый последующий миллион клеток необходимо добавить 300 мкл буфера для лизиса LB.

3. Перемешать образец на вортексе 5–10 с или пипетированием.

4. Сбросить капли коротким центрифугированием.

5. Инкубировать 10 мин при 15–25°C.

Мазки или соскобы эпителиальных клеток.

1. Перенести аликвоту объёмом 100 мкл физраствора или транспортной среды после инкубации ватной палочки с соскобом или мазком эпителиальных клеток в чистую микропробирку на 1.5–2 мл

2. Чистым одноразовым наконечником добавить 500 мкл буфера для лизиса LB.

3. Перемешать образец на вортексе 5–10 с или пипетированием.

4. Сбросить капли коротким центрифугированием.

5. Инкубировать 10 мин при 65°C.

2) Осаждение ДНК/РНК.

1. К лизату добавить равный объём буфера для осаждения ДНК/РНК РВ.
2. Перемешать пипетированием или на вортексе.
3. Центрифугировать 5 мин, 10000 rcf. Аккуратно удалить супернатант, не задевая осадок.

3) Промывка осадка ДНК/РНК.

1. К осадку добавить 500 мкл буфера для промывки WB. Аккуратно перемешать, перевернув пробирку 3–5 раз.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB этанол.

2. Центрифугировать 1 мин, 12000 rcf. Аккуратно удалить супернатант, не задевая осадок.
3. Повторить п. 1, 2 из раздела «Промывка осадка ДНК/РНК».

4) Растворение ДНК/РНК

1. Сушить осадок ДНК/РНК на воздухе при 15–25⁰С в течение 15–20 мин.

Примечание: если остались следы буфера WB или запах этанола, увеличить время инкубации на 10 мин, предварительно отобрав остаток буфера WB.

Важно! Не пересушивать осадок. Это может привести к деградации ДНК/РНК и увеличить время их растворения.

2. К осадку добавить 50 мкл буфера для растворения ДНК/РНК SB.
 - Буфер для элюции – вода, очищенная от РНКаз.
3. Перемешать на вортексе, инкубировать образец ДНК/РНК при 15–25⁰С в течение 5–10 мин.
4. Центрифугировать 5 мин, 12000 rcf. Аккуратно, не задевая осадок, перенести раствор ДНК/РНК в чистую пробирку.
5. Раствор ДНК/РНК хранить при –20⁰С.

Примечание: для получения наилучшего результата рекомендуется использовать РНК в этот же день для проведения ОТ. В течение дня раствор ДНК/РНК можно хранить при +4⁰С.

Анализ выделенных ДНК/РНК

В зависимости от количества полученного образца ДНК/РНК анализ можно провести

- с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле и УФ-спектрометрии;
- с помощью ПЦР или ОТ-ПЦР.

Условия хранения и транспортировки:

Хранение: набор для выделения ДНК/РНК хранить при 2–25⁰С. Срок годности см. на упаковке.

Транспортирование набора производить при температуре от +15 до +25⁰С.