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 из тканей животных на магнитных частицах

Кат. номер MagTissues-100, MagTissues-1200

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 12.03.2026.

Описание

Набор для выделения ДНК из образцов тканей животных, волосяных фолликулов, фолликулов шерсти, ушных выщипов, спермопродукции и тканей эмбрионов сельскохозяйственных животных на магнитных частицах. Набор предназначен для эффективного и высококачественного получения геномной ДНК.

Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот из предварительно лизированного образца на магнитных частицах на основе оксида железа и оксида кремния, последующей промывке и элюции очищенного продукта.

Выделение ДНК возможно, как ручным способом, с помощью магнитного штатива, так и автоматическим способом, с использованием автоматической станции Auto-Pure96 (Allsheng) или любой другой автоматической станции.

Выделенная ДНК может быть использована для проведения молекулярно-генетической экспертизы, генотипирования STR-маркеров (микросателлитов), SNP-маркеров в том числе молекулярно-генетические исследования согласно положению о проведении молекулярной генетической экспертизы племенной продукции государств – членов Евразийского экономического союза от 2 июня 2020г. N74.

Состав набора

	MagTissues-100 100 выделений	MagTissues-1200 1200 выделений
Буфер для лизиса LB	40 мл	12x40 мл
Буфер для осаждения PB	8 мл	12x8 мл
Буфер для сорбции BB	40 мл	12x40 мл
Буфер для промывки WB1	55 мл	12x55 мл
Буфер для промывки WB2	55 мл	12x55 мл
Буфер для промывки WB3 (концентрат)	11 мл	12x11 мл
Буфер для элюции EB	2x15 мл	24x15 мл
Магнитные частицы M	2x1.1 мл	24x1.1 мл
Протеиназа K (20 мг/мл), раствор	2x1.2мл	24x1.2 мл

Меры предосторожности

Осторожно! Буферы LB, PB, BB, WB1, WB2 содержат растворы веществ, оказывающих раздражающее и токсичное действие. При работе необходимо соблюдать правила общей и личной техники безопасности. Токсичен при попадании на кожу и внутрь, оказывает раздражающее действие.

Осторожно! Буфер WB1 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 набором следует надевать одноразовые резиновые перчатки, и придерживаться техники безопасности при работе с веществами, оказывающими раздражающее действие на кожу и слизистые.

Эксплуатация

Компоненты, LB, PB, BB, WB1, WB2, WB3, EB, M, Протеиназа K, стабильны в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения (см. на упаковке) и достаточной герметизации флаконов.

Внимание! Не нагревать набор выше температуры +25°C, несоблюдение температурного режима хранения и транспортировки снижает активность протеиназы K и эффективность выделения.

Внимание! Не хранить смесь буфера для лизиса LB и протеиназы K. Использовать сразу после приготовления.

Условия работы

Температура окружающей среды от +15 до +25 °C;
Относительная влажность воздуха не более 80 %;
Атмосферное давление 630 – 800 мм рт. ст.

Материалы и оборудование необходимые для работы

Ручной способ

- Магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок на 1.5-2 мл
- Твердотельный термостат, поддерживающий температуру 60 °C
- Вортекс
- Центрифуга для микропробирок на 1.5-2 мл, скорость 10000 rcf
- Микроцентрифужные пробирки на 1.5-2 мл
- Одноканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них
- Перчатки резиновые

Автоматический способ

- Глубоколуночный планшет с V-образными лунками на 2 мл, 6 шт.
- Наконечники для магнитных стержней или гребёнка, 1 шт.
- Одноканальные/многоканальные дозаторы переменного объёма и наконечники для них
- Перчатки резиновые

Перед началом работы

Подготовка буфера WB3.

- **1 выделение, 500 мкл**. К 80 мкл буфера WB3 (концентрат) добавить 420 мкл этанола (96-100%).
- **1 флакон**. К 11 мл буфера WB3 (концентрат) добавить 44 мл этанола (96-100%), чтобы получить 55 мл буфера WB3.

После добавления этанола плотно закрывать крышку. Рекомендуется добавлять этанол к аликвоте буфера WB3 непосредственно перед работой, поскольку при хранении готового буфера с этанолом в течение нескольких месяцев этанол может частично испариться.

Протокол выделения ДНК из образцов. Ручной способ

1) Подготовка образцов

1.1) Образцы тканей животных

Рекомендуемый вес образца зависит от типа ткани, но не должен превышать 10 мг на одно выделение.

Внимание! При первом выделении рекомендуется использовать не более 1 мг навески ткани на одно выделение, постепенно доводя количество образца до максимально допустимого в 10 мг.

- Допустимо использовать автоматические станции гомогенизации для измельчения образца. Гомогенизация должна проводиться в 300 мкл буфера для лизиса LB. Далее переход к п. 2.2.
- Гомогенизация в жидком азоте может проводится без использования буфера для лизиса LB.
- Гомогенизация одноразовыми пестиками должна проводиться в 300 мкл буфера для лизиса LB. Далее переход к п. 2.2.
- После гомогенизации убедиться в том, что в образце не осталось крупных не гомогенизированных частиц.

Важно! Убедитесь, что вы пользуетесь одноразовыми системой гомогенизации либо проведите полное удаление образца из системы гомогенизации после работы, чтобы избежать загрязнения последующих проб.

1.2) Образцы спермопродукции

- Рекомендуемый объём образца составляет 100 мкл спермопродукции на одно выделение.

1.3) Образцы волос или шерсти

- Работа с сильнозагрязнёнными образцами. Исследуемые образцы волос или шерсти тщательно промыть очищенной водой первого типа и высушить. Очищенные и высушенные образцы нарезать в новую пробирку, отрезая участки длиной 5-10 мм содержащие волосяную луковицу.
- Работа с незагрязнёнными образцами. Образцы нарезать в новую пробирку, отрезая участки длиной 5-10 мм содержащие волосяную луковицу.

Примечание: Следует учитывать, что образцы волос и шерсти без этапа промывки могут содержать примесь чужеродных тканей и могут являться источником контаминации посторонней ДНК.

1.4) Гомогенизаты образцы тканей животных, суспензии клеток.

- Допустимо использовать до 100 мкл гомогенизатов тканей в PBS или до 100 мкл клеток в PBS. Максимальное количество ткани из расчёта на одно выделение не должно превышать 10 мг. Максимальное количество клеток на одно выделение не должно превышать 1 млн. клеток.

Внимание! При первом выделении из образцов тканей рекомендуется использовать не более 1 мг навески ткани на одно выделение, постепенно доводя количество образца до максимально допустимого в 10 мг.
При выделении из суспензии клетками рекомендуется использовать не более 100 тыс. клеток на одно выделение, постепенно доводя количество образца до максимально допустимого в 1 млн. клеток.

2) Лизис образцов

2.1. К образцу добавить 300 мкл буфера для лизиса LB.
2.2. Чистым одноразовым наконечником добавить 20 мкл протеиназы K (20 мг/мл).
2.3. Перемешать образец пипетированием или на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.
2.4. Инкубировать 30 минут при 56 °C. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал), допускается проведение дополнительной инкубации в течение 30 минут при 56 ºC.

Опционально. Удаление примеси РНК

Внимание! При работе с образцами с высокой концентрацией РНК либо проведении дальнейших работ чувствительных к наличию примеси РНК рекомендуется провести удаление РНК при помощи РНКазы А (Кат. № ER-500).
Для удаления примеси РНК к лизату добавить 5 мкл РНКазы А. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 10 минут при 25 °C.

2.5. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.
2.6. Охладить на льду. (Инкубировать 10 минут при +4°C). Обязательно убедиться в том, что образец остыл. Несоблюдение данного этапа может привести к высокому загрязнению выделенной ДНК продуктами деградации белков.

3) Удаление нелизированных тканей.

Внимание! При работе с автоматическими гомогенизаторами, использующими матрицу для гомогенизации, перед добавление буфера PB необходимо удалить матрицу из образца. Для этого центрифугируйте образцы 2 мин, 12000 rcf после отберите весь объём жидкости и перенесите в новую пробирку.
3.1. К образцу добавить 50 мкл буфера для осаждения PB.
3.2. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.
3.3. Центрифугировать 5 мин, 10000 rcf. Перенести 300-400 мкл супернатанта, в чистую пробирку.

4) Сорбция образца на магнитных частицах

4.1. Ресуспендировать магнитные частицы **M** перемешиванием вручную или на вортексе до образования однородной суспензии.

4.2. К лизату добавить 300 мкл буфера для сорбции BB. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной смеси.
4.3. Добавить 20 мкл суспензии магнитных частиц, сразу же перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.
4.4. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.
4.5. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 2 минуты.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

4.6. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.

5) Промывка магнитных частиц

5.1. Добавить в пробирку с магнитными частицами 500 мкл буфера для промывки WB1. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.
5.2. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 2 минуты.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

5.3. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.
5.4. Добавить в пробирку с магнитными частицами 500 мкл буфера для промывки WB2. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.
5.5. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 2 минуты.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

5.6. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.
5.7. Добавить в пробирку с магнитными частицами 500 мкл буфера для промывки WB3. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB3 этанол.

5.8. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 2 минуты.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

5.9. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы.

5.10. Не убирая пробирку с магнитного штатива сушить пробирку с магнитными частицами на воздухе 5-15 минут при 15-25 °С или до полного высыхания (устранения запаха спирта).

6) Элюция ДНК

6.1. Добавить в пробирку с магнитными частицами 100 мкл буфера для элюции EB. Тщательно перемешать пипетированием или на вортексе до получения однородной суспензии. Инкубировать 3 минуты при 60 °С.

- 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.

6.2. Поместить пробирку с образцом в магнитный штатив. Инкубировать 5 мин.

Примечание: убедиться, что магнитные частицы собрались на стенке пробирки. Если значительная доля частиц осталась в растворе, то увеличить время инкубации.

6.3. Не убирая пробирку с магнитного штатива, аккуратно отобрать, не задевая магнитные частицы, и перенести супернатант, содержащий ДНК, в чистую пробирку.

Важно! При наличии посторонних частиц в элюате центрифугировать образец ДНК 3 мин, 12000 rcf. Перенести супернатант, содержащий ДНК, в чистую пробирку.

6.4. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20°С. Для длительного хранения рекомендуется добавить EDTA (pH 8) до конечной концентрации 0.1-1 мМ.

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

Примечание: Максимальный возможный выход ДНК составляет 10 мкг и зависит от количества и типа образца.

Вид ткани	Максимальная масса навески	Максимальный теоретический выход ДНК
Печень	10 мг	10 мкг
Почка	10 мг	6 мкг
Сердце	10 мг	4 мкг
Ткани хвоста	10 мг	2 мкг

Протокол выделения ДНК. Автоматический способ. Auto-Pure 96 (Allsheng)

1) Подготовка станции.

1.1. Планшет, позиция № 1. Гребёнка. Поместить в чистый 96-луночный планшет гребёнку.

1.2. Планшет, позиция № 2. Сорбция. Добавить в лунку планшета 300 мкл буфера для сорбции BB.

1.3. Планшет, позиция № 3. Промывка №1. Добавить в лунку планшета 500 мкл буфера для промывки WB1.

1.4. Планшет, позиция № 4. Промывка №2. Добавить в лунку планшета 500 мкл буфера для промывки WB2.

1.5. Планшет, позиция № 5. Промывка №3. Добавить в лунку планшета 500 мкл буфера для промывки WB3.

Примечание: не забудьте предварительно добавить к буферу WB3 этанол.

1.6. Планшет, позиция № 8. Элюция ДНК. Добавить в лунку планшета 200 мкл буфера для элюции EB.

Состав буфера для элюции EB: 0.01 M Tris•HCl (pH 8.0), не содержит EDTA.

2) Подготовка образцов.

Внимание! Гомогенизация и лизис образцов происходит отдельно, не на станции выделения.

Примечание: общие рекомендации по подготовке образца можно прочитать в предыдущем разделе «**Протокол выделения ДНК. Ручной способ**».

3) Лизис образцов

3.1. К образцу добавить 300 мкл буфера для лизиса LB.

3.2. Чистым одноразовым наконечником добавить 20 мкл протеиназы K (20 мг/мл).

3.3. Перемешать образец пипетированием или на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием.

3.4. Инкубировать 30 минут при 56 °C. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал), допускается проведение дополнительной инкубации в течение 30 минут при 56 ºC.

Опционально. Удаление примеси РНК

Внимание! При работе с образцами с высокой, концентрацией РНК, либо проведении дальнейших работ чувствительных к наличию примеси РНК рекомендуется провести удаление РНК при помощи РНКазы A (Кат. № ER-500). Для удаления примеси РНК к лизату добавить 5 мкл РНКазы A. Перемешать образец на вортексе 5-10 с. Сбросить капли коротким центрифугированием. Инкубировать 10 минут при 25 °C.

3.5. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.

3.6. Охладить на льду. (Инкубировать 10 минут при +4°C). Обязательно убедиться в том, что образец остыл. Несоблюдение данного этапа может привести к высокому загрязнению выделенной ДНК продуктами деградации белков.

4) Удаление нелизированных тканей.

4.1. К образцу добавить 50 мкл буфера для осаждения РВ. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.

4.2. Перемешать образец на вортексе 5-10 с.

4.3. Центрифугировать 5 мин, 10000 rcf. Перенести 300-400 мкл супернатанта, в планшет, позиция №2 для автоматической станции выделения.

5) Сорбция и очистка образца на магнитных частицах

5.1. Добавить в лунку планшета №2 по 300-400 мкл лизированного образца и 20 мкл магнитных частиц М.

5.2. Поместить планшет с лизатом на позицию №2.

5.3. Запустить программу «MagTissues» на станции Auto-Pure 96 (Allsheng).

Примечание: на данном этапе происходит очистка нуклеиновых кислот.

5.5. После завершения программы «MagTissues» выделенная ДНК будет находиться в планшете на позиции №8.

5.6. Элюат, содержащий ДНК, хранить при -20°C.

Примечание: максимальный возможный выход ДНК составляет 5 мкг и зависит от количества и типа образца.

Важно! Файлы с программами «MagTissues.txt» для станции Auto-Pure 96 (Allsheng) можно получить следующими способами:

- самостоятельно загрузить на сайте компании ООО «Биолабмикс» (www.biolabmix.ru), для удобства в поисковой строке указать каталожный номер продукта (MagTissues-100);
- связаться с сотрудниками отдела продаж компании ООО «Биолабмикс» (sales@biolabmix.ru, тел. 8-800-600-88-76).

Анализ выделенной ДНК

Анализ выделенной ДНК можно провести с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле, с помощью УФ-спектрометрии, флуориметрии или с помощью ПЦР.

Целостность выделенной ДНК можно проверить с помощью гель-электрофореза в 1% агарозном геле.

Количество выделенной ДНК можно оценить с помощью УФ-спектрометрии или флуориметрии.

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.

- 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.

Условия хранения

Набор для выделения ДНК хранить при комнатной температуре (15-25 °С).
Магнитные частицы хранить при температуре 2-8 °С.
Раствор протеиназы К хранить при температуре от -18 до -24°С.
Срок годности см. на упаковке.

Условия транспортировки

Транспортировку набора производить при комнатной температуре (15-25 °С).
Транспортировку магнитных частиц и раствора протеиназы К производить при комнатной температуре (15-25 °С).
Допускается транспортирование при температуре не выше +25°С в течение 14 суток.

Дополнительные реагенты

- Стерильные пестики для гомогенизации образцов тканей в микропробирках (Кат. № pest-10).
- 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).
- РНКаза А (Кат. № ER-500).
- БиоМастер LR HS-ПЦР (2×) (Кат. № MH040-100, MH040-400). Для амплификации длинных фрагментов ДНК от 0.2 до 30 т.п.о.
- БиоМастер LR HS-ПЦР-Color (2×) (Кат. № MHC040-100, MHC040-400). Для амплификации длинных фрагментов ДНК от 0.2 до 30 т.п.о.

Вопросы и ответы:

1. Наличие крупных частей тканей после лизиса.
a) Рекомендуется подобрать оптимальный протокол гомогенизации образцов тканей. Гомогенизация напрямую влияет на качество и количество выделенной ДНК.
b) Убедитесь в том, что к образцам на стадии лизиса была добавлена Протеиназа К.
2. Не формируется осадок при добавлении буфера PB *к лизату.*
Рекомендуется убедиться в том, что лизат был охлаждён до комнатной температуры.
3. Образование стойкой эмульсии после добавления PB к лизату. Высокое содержание липидов или полисахаридов в образце (например, ткани мозга).
Проводите центрифугирование по п. 3 при температуре +4°C.
4. При добавлении буфера BB *и МЧ к образцу наблюдается образование крупных агрегатов магнитных частиц.*
В образце присутствует высокая концентрация ДНК, рекомендуется уменьшить массу навески в 2-5 раз и повторить выделение. Обратите внимание, что уменьшение навески также приведёт к снижению суммарного выхода ДНК.
5. Низкий выход ДНК
a) Недостаточная гомогенизация образца
Рекомендуется проводить гомогенизацию с использованием автоматических станций гомогенизации.
b) Уведитесь что был добавлен буфер BB.
6. Низкое значение A260/A280
a) Для разведения образца перед измерением чистоты используйте 0.01 M Tris•HCl (pH 8.00), а не воду, обработанную DEPC.
b) Убедитесь, что изменении спектров поглощения ДНК вы используется в качестве бланка раствор EB из того же набора которым проводилось выделение.
c) Убедитесь, что при выделении не оставалось капель растворов на внутренней стороне пробирки.
d) Убедитесь, что перед добавление EB были полностью удалены остатки WB3.
e) При выделение из малого количества тканей (менее 1 мг), концентрация выделяемой ДНК существенно ниже рекомендуемого порога определения концентраций методом спектрометрии (менее 20 нг/мкл).
Рекомендуется увеличить количество образца, используемое на выделение, либо сконцентрировать образец после выделения набором DR-micro.
7. Мутный элюат.
Рекомендуется уменьшить массу навески в 2-5 раз и повторить выделение. Обратите внимание, что уменьшение навески также приведёт к снижению суммарного выхода.
8. На форезе наблюдается фрагменты деградации ДНК.
a) Рекомендуется подобрать оптимальный протокол гомогенизации образцов тканей. Гомогенизация напрямую влияет на качество и количество выделенной ДНК. Избыточная гомогенизации приводит к деградации ДНК в процессе гомогенизации до основного этапа лизиса.
b) Убедитесь, что образы хранились должным образом и не были подвержены естественным процессам деградации.
9. На форезе наблюдаются фрагменты РНК.
При работе с образцами с высокой, концентрацией РНК, либо проведении дальнейших работ чувствительных к наличию примеси РНК рекомендуется провести удаление РНК при помощи РНКазы A (Кат. № ER-500), см. п. 2.4. основного протокола текущей инструкции.