

Инструкция по применению



GentaSpin DNA Gel Elution

Набор для элюции ДНК из агарозного геля

Версия 1 от 02.05.2023

1. ОПИСАНИЕ

Набор предназначен для выделения фрагментов двухцепочечной ДНК (от 100 до 20 000 п.н.) из агарозного геля после проведения их разделения методом гель-электрофореза. Специально подобранный состав связывающего раствора (**GE**) обеспечивает эффективную очистку с высоким выходом. Для этого агарозу плавят в высококонцентрированном водном растворе солей и наносят полученный раствор на колонку со связывающим носителем на основе диоксида кремния, а затем, после промывки, элюируют ДНК в низкосолеваемом буфере. Использование колонок с микрофильтром позволяет получить концентрированный раствор ДНК без примесей и механических включений.

Набор предназначен только для проведения научных исследований.

2. СОСТАВ

Компонент	20 выделений REF: KI-GSGE-S	50 выделений REF: KI-GSGE-L	250 выделений REF: KI-GSGE-X
Связывающий раствор GE	12 мл	30 мл	150 мл
Раствор CW2	10 мл	20 мл	50 мл
Раствор SE	1,5 мл	3 мл	15 мл
Спин-колонки с микрофильтром для очистки из агарозного геля	20 шт	50 шт	250 шт
Пробирки на 2 мл без крышек	20 шт	50 шт	250 шт

3. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ

Все компоненты набора хранятся и транспортируются при комнатной температуре в сухом, защищенном от света месте в упаковке производителя.

Температурный режим хранения от +15 до + 30 °С.

Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

АО «ГенТерра». 129085. г. Москва, ул. Годовикова д. 9, стр. 1, этаж 1, подъезд 1, пом. 1.12,
+7 495 721 29 70 +7 929 692 58 64 www.genterra.ru info@genterra.ru

4. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Количество биоматериала	до 200 мг 2% агарозного геля
Ёмкость колонки	до 5 мкг ДНК
Количество ДНК для очистки	Не менее 100 нг
Размер фрагментов выделяемой ДНК	100 – 20 000 п.о.
Объем элюции	15 - 50 мкл
Выход ДНК	60 - 90 %
Чистота: A_{260}/A_{280}	≥ 1.8
Время выделения по протоколу	20 минут
Очищенная ДНК пригодна для проведения	Лигирование, рестрикция, трансформация, секвенирование, ПЦР

5. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

- Настольная центрифуга высокоскоростная (до 12 000 g)
- Вортекс
- Настольный твердотельный термостат
- Скальпель и весы (для вырезания и взвешивания агарозного геля)
- Трансиллюминатор и защитные очки или экран
- Микроцентрифужные пробирки 1,5 мл
- Автоматические дозаторы на 20, 200 и 1000 мкл
- Наконечники с фильтром, совместимые с дозаторами
- 96-100% этанол

6. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ

- Все рабочие растворы рекомендуется использовать комнатной температуры.
 - Добавьте 96%-100% этанол во флакон с Раствором CW2:
 - к 10 мл Раствора CW2 55 мл 96% водного этанола (или 52 мл 100% этанола)
 - к 20 мл Раствора CW 110 мл 96% водного этанола (или 105 мл 100% этанола)
 - к 50 мл Раствора CW 275 мл 96% водного этанола (или 265 мл 100% этанола)
- Перемешайте. Подпишите дату добавления этанола на крышке флакона.
- Перед началом работы рекомендуется заранее подготовить и подписать пробирки и колонки для образцов.

7. ПРОТОКОЛ РАБОТЫ

<p><i>Рекомендации:</i> Подготовьте и подпишите нужное количество колонок для элюции ДНК из геля.</p>	
1	<p>Вырежьте из геля интересующую целевую полоску, содержащую ДНК, стараясь как можно меньше подвергать гель воздействию ультрафиолета.</p> <p><i>Для защиты глаз используйте защитный экран и очки.</i></p>
2	<p>Обнулите на весах пробирку на 1,5 мл. Поместите в пробирку кусочек геля с целевой ДНК, взвесьте и запишите вес.</p>
3	<p>Добавьте к кусочку геля 450 мкл «Связывающего раствора GE» (3 объема).</p> <p><i>150 мг геля приравнивается к 150 мкл раствора и считается 1V.</i></p>
4	<p>Инкубируйте смесь в настольном термостате при 60°C 10 минут до полного растворения геля.</p> <p><i>Если масса геля больше 150 мг, по окончании инкубации добавьте 50 мкл 3M NaOAc pH 5.2, перемешайте многократным пипетированием и сразу же наносите на колонку.</i></p>
5	<p>Нанесите растворенный образец в Связывающем GE растворе на микро-спин колонку</p>
6	<p>Центрифугируйте колонку 15 сек при комнатной температуре с ускорением 12000 g.</p> <p><i>Для улучшения выхода ДНК для фрагментов 100-500 п.н. нанесите повторно первый проскок на колонку. Центрифугируйте колонку 15 секунд с ускорением 12000 g.</i></p>
7	<p>Удалите фильтрат из пробирки. Добавьте 850 мкл «Раствора CW2» на колонку.</p>
8	<p>Центрифугируйте колонки 15 сек при комнатной температуре с ускорением 12000 g.</p>
9	<p>Удалите фильтрат из пробирки. Колонку верните в пробирку. Повторите п. 8-10.</p> <p><i>Для полного удаления остатков солей и достоверного измерения концентрации образца методом спектрофотометрии повторите этап промывки 3 раза.</i></p>

10	Центрифугируйте колонку в течение 1 минуты при комнатной температуре с ускорением 12000 g для полного удаления остатков «Раствора CW2 ».
11	Поместите колонку в новую подписанную пробирку для сбора ДНК.
12	Нанесите в центр колонки 15 – 25 мкл «Раствора SE ».
13	Инкубируйте при комнатной температуре 1 минуту, а затем центрифугируйте в течение 1 минуты при комнатной температуре с ускорением 12000 g.
14	Элюат содержит очищенную целевую ДНК.
15	Храните образец ДНК при -20°C.
<i>Рекомендация: перед измерением концентрации ДНК методом спектрофотометрии перемешайте образцы на вортексе.</i>	

9. РЕКОМЕНДАЦИИ

- Старайтесь вырезать кусочек геля минимального веса, не потеряв при этом целевой фрагмент с ДНК.
- Кусочек геля должен полностью раствориться в Связывающем растворе **GE**, для улучшения растворения рекомендуется несколько раз встряхнуть и перемешать смесь.
- Для кусочков геля массой больше 150 мг, по окончании инкубации добавьте 50 мкл 3М NaOAc pH 5.2 для улучшения сорбции фрагмента ДНК на колонке.
- При работе с малыми количествами (50-150 нг) образца и с фрагментами 100-200 п.н. для улучшения выхода повторите п. 7 (то есть повторно нанесите первый просок на колонку).
- Не инкубируйте образец выше 60°C, это может привести к повреждению образца и денатурации агарозы, что в свою очередь приведет к уменьшению эффективности связывания ДНК с носителем.
- Для полного удаления остатков солей и достоверного измерения концентрации образца методом спектрофотометрии повторите этап промывки 3 раза.
- Для улучшения выхода ДНК, особенно при работе с длинными фрагментами (от 7 000 п.н.) рекомендуется подогреть Раствор **SE** до 60-70° С перед проведением элюции.
- Минимальный объем элюции - 15 мкл, при элюции в меньшем объеме есть вероятность снижения общего выхода целевой ДНК.



9. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ, ВОЗНИКАЮЩИЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАБОРА, ИХ ПРИЧИНЫ И РЕШЕНИЯ

Проблема	Описание, пути решения
Низкий выход ДНК	<p><u>Возможные причины:</u></p> <ol style="list-style-type: none">1. Неполное растворение агарозы: фрагменты геля забили мембрану колонки.2. Проблема в промывочном растворе.3. Объем элюции. <p><u>Решения:</u></p> <ol style="list-style-type: none">1. Убедитесь в полном растворении агарозы анализируя прозрачность раствора на свету при перемешивании.2. Проверьте, что в Раствор CW2 добавлен 96% водный этанол согласно инструкции. Используйте этанол для молекулярной биологии или перегнанный этанол. Всегда плотно закручивайте крышку флакона.3. Не уменьшайте объем элюции ниже 15 мкл. Добавляйте раствор SE непосредственно в центр фильтра колонки. Инкубируйте как минимум 1 минуту.

При обнаружении не описанных проблем в работе набора, сообщите производителю по адресу info@genterra.ru. Убедительно просим Вас в письме с описанием проблемы указывать каталожный номер и лот вашего набора.

10. МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С КОМПОНЕНТАМИ НАБОРА

Связывающий раствор **GE** содержит хаотропную соль в высокой концентрации. Избегайте контакта жидкости во флаконе с сильными окислителями, такими как перекись водорода или дезинфицирующие средства (Белизна или Доместос).

При работе с растворами из набора **GentaSpin DNA Gel Elution** рекомендуется: использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами; не допускать проглатывания, попадания на слизистые и кожу, при попадании – промыть большим количеством воды; после работы обработать рабочее место дезинфицирующим раствором или 70% спиртом.



Инструкция
GentaSpin DNA Gel Elution

Версия 1
от 02.05.2023
Стр 6

Уважаемый Пользователь!

Благодарим Вас за выбор продукта от АО «ГенТерра»!

Если у Вас есть рекомендации по улучшению данного продукта или пожелания по расширению нашей линейки продукции, мы будем Вам признательны если вы предоставите на обратную связь по адресу info@genterra.ru



Инструкция
GentaSpin DNA Gel Elution

Версия 1
от 02.05.2023
Стр 7

ДЛЯ ЗАПИСЕЙ

