

Наборы diaGene для выделения ДНК и РНК

Кат.№	3316	для выделения плазмидной ДНК из бактерий
Кат.№	3317	для выделения РНК из культур клеток
Кат.№	3318	для выделения геномной ДНК из культур бактериальных клеток
Кат.№	3319	для выделения ДНК из культур клеток
Кат.№	3320	для выделения ДНК из пищевых продуктов и сыра
Кат.№	3321	для выделения ДНК из плазмы крови
Кат.№	3322	для выделения ДНК из соскобов букального эпителия
Кат.№	3323	для выделения ДНК из цельной крови
Кат.№	3324	для выделения РНК из плазмы крови
Кат.№	3326	для элюции ДНК из агарозного геля
Кат.№	3352	для выделения ДНК из растительной ткани
Кат.№	3361	для выделения ДНК из цельной крови
Кат.№	3367	для выделения ДНК из сперматозоидов
Кат.№	3403	для выделения ДНК из слюны
Кат.№	3489	для выделения ДНК из широкого спектра биологических образцов

Набор diaGene для выделения ДНК из культур клеток

Состав набора

	50 выделений Кат.№ 3319.0050	250 выделений Кат.№ 3319.0250
Буфер LB	10 мл	50 мл
Раствор для сорбции	15 мл	75 мл
Буфер WB1	30 мл	2 x 75 мл
Раствор для промывки 2	15 мл	3 x 30 мл
Протеиназа К	2 мг	10 мг (5 x 2 мг)
Спинколонки	50 шт.	5 x 50 шт.
2 мл пробирки для сбора фильтрата	50 шт.	5 x 50 шт.

Принцип действия

Набор предназначен для выделения ДНК из культур животных клеток. Выделение ДНК начинается с лизиса клеток, очистка нуклеиновой кислоты происходит за счёт связывания ДНК с сорбентом колонок diaGene. Связанная ДНК отмывается от примесей и элюируется в виде чистого препарата. Выход ДНК зависит от типа и количества клеток, поэтому надо учитывать, что ёмкость колонок - до 20 мкг нуклеиновой кислоты.

Дополнительное оборудование и реагенты

- Твердотельный термостат, желательнее с функцией перемешивания.
- Микроцентрифуга для пробирок типа эппендорф ёмкостью 1.5-2 мл со скоростью центрифугирования не менее 13000 об/мин.
- Дозаторы переменного объёма и наконечники к ним.

- Стерильные пробирки типа эппендорф ёмкостью 1.5 мл, свободные от нуклеаз.
- 96% этанол.
- бета-меркаптоэтанол
- Деионизованная автоклавированная вода или вода, свободная от нуклеаз.

Перед началом работы:

- Добавьте 96% этанол: в **Буфер WB1** (10 мл для 50 выделений, 25 мл в каждый флакон для 250 выделений) и в **Раствор для промывки 2** (40 мл для 50 выделений, 80 мл в каждый флакон для 250 выделений). Тщательно перемешайте.
- Растворите **Протеиназу К** в 100 мкл деионизованной воды. Рекомендуется расфасовать полученный раствор **Протеиназы К** на аликвоты по 20-50 мкл и хранить при -20°C.
- Возможно выпадение осадка в **Растворе для сорбции**. Для растворения осадка перед использованием необходимо прогреть раствор в течение 5-10 минут при +55°C. **Не нагревать свыше +65°C!**

Выделение ДНК из культур клеток

1. Осадите клетки центрифугированием в течение 10 минут при 600 об/мин, удалите супернатант.
2. Ресуспандируйте осадок из расчёта 200 мкл **Буфера LB** на 500 тыс. клеток. Добавьте Протеиназу К (2 мкл на 200 мкл Буфера LB) и меркаптоэтанол (4 мкл на 200 мкл буфера LB). Инкубируйте 20 минут при +56°C в термошейкере или периодически перемешивая.
3. Добавьте **Раствор для сорбции** из расчёта 280 мкл на 200 мкл лизата и перемешайте.
4. Внесите в колонку 650 мкл образца. Центрифугируйте 1 минуту при 13000 об/мин. **Необходимо учитывать, что объём колонки составляет 650 мкл.** Если объём образца превышает 650 мкл, последовательно нанести образец на колонку, удаляя каждый раз фильтрат из пробирки для сбора фильтрата
5. Внесите в колонку 300 мкл **Буфера WB1** и центрифугируйте 1 мин при 13000 об/мин. Удалите фильтрат.
6. Повторите п.5.
7. Внесите в колонку 500 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугируйте 1 мин при 13000 об/мин. Удалите фильтрат.

8. Повторите п.7.

9. Поместите микроколону в ту же пробирку и центрифугируйте 1 минуту при 13000 об/мин для удаления остатков буфера.

10. Поместите микроколону в новую 1.5 мл пробирку. Нанесите в центр мембраны 50 мкл деионизованной воды и подождите 1-3 мин.

Минимальный объём воды для элюции – 30 мкл, максимальный – 100 мкл. При элюции 30 мкл достигается максимальная концентрация ДНК, при элюции 100 мкл – максимальный выход.

11. Элюируйте ДНК центрифугированием в течение 1 мин при 13000 об/мин.

Полученные образцы готовы для постановки ПЦР, секвенирования, рестрикции, лигирования и прочих реакций. Образцы могут быть использованы либо немедленно, либо в течение месяца при хранении на -20°C.

Для длительного хранения рекомендуется поместить образцы ДНК на -86°C или добавить к ним 3 объёма 96% этанола и хранить при -20°C.

Срок годности и особенности хранения

Условия хранения: при комнатной температуре (+15 – +25 °C).

Протеиназу К хранить: до растворения хранить при +2...+8 °C, после растворения при -20 °C.

Срок годности: 12 месяцев с даты изготовления.

При транспортировке особые условия не требуются.