

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 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 буккального 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 с протеиназой К
- Кат.№ 3367 для выделения ДНК из сперматозоидов, с протеиназой К
- Кат.№ 3403 для выделения ДНК из слюны

Набор diaGene для выделения геномной ДНК из бактериальных клеток

Состав набора

	50 выделений Кат.№ 3318.0050	250 выделений Кат.№ 3318.0250
Буфер 1	5 мл	25 мл
Буфер 2	10 мл	50 мл
Раствор для сорбции	20 мл	100 мл
Раствор для промывки 1	20 мл	100 мл
Раствор для промывки 1	15 мл	3 x 30 мл
РНКаза	200 мкл	1 мл
Лизоцим	50 мг	5 x 50 мг
Протеиназа К	2 мг	5 x 2 мг
Микроколони	50 шт.	5 x 50 шт.
2 мл пробирки для сбора фильтрата	50 шт.	5 x 50 шт.

Набор предназначен для выделения геномной ДНК из бактериальных культур. Выделение ДНК начинается с лизиса бактериальных клеток в присутствии РНКазы и протеиназы К. Затем лизат наносится на спин-колонку **diaGene** с силикагелевым сорбентом. Очистка ДНК на спин-колонках начинается с избирательного связывания ДНК с сорбентом в присутствии хаотропной соли с последующей отмывкой связанной ДНК от примесей и заканчивается элюцией чистого препарата ДНК.

Сорбент позволяет выделять до 20 мкг свободной от примесей ДНК длиной 5 - 50 тысяч пар нуклеотидов.

Дополнительное оборудование и реагенты

- Твердотельный термостат, желательнo с функцией перемешивания,
- Микроцентрифуга для пробирок типа эппендорф ёмкостью 1.5-2 мл с максимальной 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,
- Деионизованная автоклавируемая вода или вода, свободная от нуклеаз.

Выделение геномной ДНК из бактериальных клеток

Важно:

- Перед началом работы добавьте 96% этанол в **Раствор для промывки 2** (35 мл для 50 выделений, 70 мл в каждый флакон для 250 выделений). Тщательно перемешайте.
 - Перед началом работы проверьте **Раствор для сорбции** на предмет выпадения осадка. В случае выпадения осадка Раствор необходимо прогреть в течение 5-10 минут при +55°C и размешать до растворения осадка. **Нельзя нагревать раствор выше +65°C.**
 - Каждую порцию **Лизоцима** растворить в 1 мл деионизованной воды. Рекомендуется разделить раствор на аликвоты по 100 мкл и хранить при -20°C.
 - **Протеиназу К** растворить в 100 мкл деионизованной воды (для 2 мг) или в 500 мкл деионизованной воды (для 10 мг). Рекомендуется разделить раствор на аликвоты по 20 мкл и хранить при -20°C.
 - Скорости центрифугирования в об/мин приведены для настольной центрифуги MiniSpin-Eppendorf (радиус ротора - 6 см). Для центрифуг другого типа воспользуйтесь таблицами перевода **g** в **об/мин**
 - После каждого использования рекомендуется плотно закрывать пакет со спин-колонками.
1. Перенесите в микроцентрифужные пробирки 1-3 мл бактериальной культуры. Центрифугируйте 5 минут при 5000 об/мин (1500g). Удалите супернатант.
 2. Ресуспендируйте осадок в 100 мкл **Буфера 1**. Добавьте 10 мкл **Лизоцима** при выделении ДНК из грам-отрицательных бактерий или 20 мкл – при выделении ДНК из грам-положительных бактерий. Добавьте 4 мкл **РНКаза А**. Перемешайте суспензию и инкубируйте при +37°C в течение 20 минут.
 3. Центрифугируйте образцы 5 минут при 13000 об/мин (не менее 12000g). Удалите супернатант.

4. Ресуспендируйте осадок в 180 мкл **Буфера 2** и добавьте 2 мкл **Протеиназы К**. Тщательно перемешайте и инкубируйте при +56°C в течение 10 минут. **Если термостат для инкубации без функции перемешивания - необходимо регулярно перемешивать образцы вручную.**
5. Добавьте 400 мкл **Раствора для сорбции**. Перемешайте и инкубируйте при +60°C в течение 10 минут.
6. Поместите колонку в пробирку для сбора фильтрата. Нанесите на колонку раствор, полученный в п.5. Центрифугируйте 1 минуту при 13000 об/мин (не менее 12000g). Удалите фильтрат.
Необходимо учитывать, что объём колонки составляет 650 мкл. Если объём образца превышает 650 мкл, образец в колонку вносите частями, удаляя каждый раз жидкость из пробирки для сбора фильтрата.
7. Нанесите на колонку 400 мкл **Раствора для промывки 1** и центрифугируйте 1 мин при 13000 об/мин (не менее 12000g). Удалите фильтрат.
8. Нанесите на колонку 600 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугируйте 1 мин при 13000 об/мин (не менее 12000g). Удалите фильтрат.
9. Поместите колонку в ту же пробирку и центрифугируйте 1 минуту при 13000 об/мин для удаления остатков буфера.
10. Поместите колонку в новую 1.5 мл пробирку. Нанесите в центр мембраны 50 мкл деионизованной воды и подождите 1-3 мин.
Минимальный объём воды для элюции – 50 мкл, максимальный – 150 мкл. При элюции 50 мкл достигается максимальная концентрация ДНК, при элюции 150 мкл – максимальный выход.
11. Элюируйте ДНК центрифугированием в течение 1 мин при 13000 об/мин (не менее 12000g). Рекомендуется перенести элюат в новую пробирку.

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

Срок годности и особенности хранения

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

Протеиназу К и **Лизоцим** до растворения хранить при +4°C.

РНКаза А, а также **протеиназу К** и **Лизоцим** после растворения хранить при -20°C.

Срок годности: 12 месяцев с даты изготовления.

При транспортировке особые условия не требуются.