

## 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 сперматозоидов

### Состав набора

	50 выделений Кат.№ 3367.0050	250 выделений Кат.№ 3367.0250
Лизис-буфер LBB	5 мл	25 мл
Раствор для сорбции	14 мл	70 мл
Раствор для промывки 1	30 мл	2 x 75 мл
Раствор для промывки 2 (концентрат)	15 мл	3 x 30 мл
Протеиназа К	2 мг	10 мг
Микроколоники	50 шт.	5x50 шт.
2 мл пробирки для сбора фильтрата	50 шт.	5x50 шт.

### Перед началом работы:

- В **Раствор для промывки 2** добавьте 96-100% этанол (35 мл для 50 выделений, 70 мл в каждый флакон для 250 выделений) и тщательно перемешайте.
- Растворите **Протеиназу К** в деионизованной воде (2 мг для 50 выделений - в 100 мкл, 10 мг для 250 выделений - в 500 мкл). Рекомендуется расфасовать раствор **Протеиназы К** на аликвоты по 20-50 мкл.
- 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!**
- Приготовьте буфер PBS (10 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 137 мМ NaCl, pH 7.4) из расчёта 100 мкл на 1 образец (100 мкл семенной жидкости). Для этого можно воспользоваться готовым таблетированным буфером, например, Sigma-Aldrich P4417.
- Приготовьте раствор 1М дитиотреитола. Готовый раствор можно

хранить в течение месяца при -20°C. Для более длительного хранения рекомендуется -86°C. 1М раствор дитиотреитола можно заменить 1.5М раствором бета-меркаптоэтанола, но выход ДНК при этом снижается примерно на 20-30%. Раствор бета-меркаптоэтанола хранится при +4°C.

Все остальные реагенты, кроме раствора **Протеиназы К**, могут храниться при комнатной температуре. Раствор **Протеиназы К** необходимо хранить при -20°C.

Во избежание загрязнения образцов не рекомендуется сливать фильтрат через край. Для удаления фильтрата используйте автоматическую пипетку или аспиратор.

### **Выделение геномной ДНК из сперматозоидов**

1. Центрифугируйте образцы семенной жидкости при 6000 об/мин в течение 10 минут. Удалите супернатант.
2. Ресуспендируйте клеточный осадок в 100 мкл буфера PBS и добавьте 100 мкл **Лизис-буфера LBB**, тщательно перемешайте.
3. Добавьте 2 мкл раствора **Протеиназы К** и 20 мкл 1М раствора дитиотреитола (или 10 мкл 1.5М раствора бета-меркаптоэтанола) тщательно перемешайте и инкубируйте в шейкере при +56°C 30 минут.
4. Добавьте 280 мкл **Раствора для сорбции** и тщательно перемешайте пипетированием, пока раствор не станет гомогенным.

Количество реагентов, входящих в Набор, рассчитано на 50 или 250 образцов по 100 мкл. Но объем образца может варьировать от 50 до 200 мкл. При этом объемы **Лизис-буфера LBB**, **Протеиназы К**, дитиотреитола (меркаптоэтанола) и **Раствора для сорбции** должны быть изменены пропорционально. Например, к клеточному осадку из 200 мкл семенной жидкости надо добавить 200 мкл **Лизис-буфера LBB**, 4 мкл **Протеиназы К**, 8 мкл 1М дитиотреитола (20 мкл 5М бета-меркаптоэтанола) и 560 мкл **Раствора для сорбции**.

5. Внесите в колонку образец. Центрифугируйте 5 минут при 12000 об/мин. **Необходимо учитывать, что объем колонки составляет 650 мкл.** Если объем образца превышает 650 мкл, последовательно нанести образец на колонку, удаляя каждый раз фильтрат из пробирки для сбора фильтрата.
6. Нанесите на фильтр колонки 300 мкл **Раствора для промывки 1** и центрифугируйте 1 минуту при 12000 об/мин. Удалите фильтрат.
7. Повторите п. 4.
8. Нанесите на фильтр колонки 500 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугируйте 1 минуту при 12000 об/мин. Удалите фильтрат.
9. Повторите п. 6.
10. Поместите микроколону в ту же пробирку и центрифугируйте 1 минуту при 12000 об/мин для удаления остатков раствора.
11. Поместите микроколону в новую 1.5 мл пробирку. Нанесите в центр мембраны 100 мкл деионизованной воды и подождите 1 минуту.  
Минимальный объем воды для элюции – 50 мкл, максимальный – 200 мкл. При элюции 50 мкл достигается максимальная концентрация ДНК, при элюции 200 мкл – максимальный выход.
12. Элюируйте ДНК центрифугированием в течение 1 мин при 12000 об/мин.

### **Срок годности, особенности хранения и транспортировки**

Срок годности: 12 месяцев с даты изготовления.

При транспортировке особые условия не требуются.