

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 сырья
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
Кат.№	3367	для выделения ДНК из сперматозоидов
Кат.№	3403	для выделения ДНК из слюны
Кат.№	3488	для выделения ДНК из животных тканей
Кат.№	3489	для выделения ДНК из широкого спектра биологических образцов

Набор diaGene для выделения ДНК из животных тканей.

Состав набора

	50 выделений 3488.0050	250 выделений 3488.0050
Буфер LBT	25 мл	2 x 65 мл
Раствор для сорбции	35 мл	2 x 90 мл
Буфер WB1 (концентрат)	30 мл	2 x 75 мл
Раствор для промывки 2 (концентрат)	2 x 15 мл	5 x 30 мл
Протеиназа К	10 мг	5 x 10 мг
Микроколонки	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 образцов животных тканей массой от 20 до 100 мкг. Очистка ДНК происходит за счёт её связывания с сорбентом колонок diaGene. Связанная ДНК отмывается от примесей и элюируется в виде чистого препарата. Выход ДНК зависит от типа ткани и может составлять до 10 мкг.

Срок годности и особенности хранения

Все реактивы (кроме протеиназы К) и колонки хранить при комнатной температуре (+15 +25 °С).

Протеиназу К хранить при +2 +8 °С, после растворения - при -20°С.

После использования пакет с колонками рекомендуется плотно закрывать

Срок годности: 12 месяцев с даты изготовления.

При транспортировке особые условия не требуются.

Дополнительное оборудование и реагенты

- Ступка с пестиком (для ручной гомогенизации) или гомогенизатор и пробирки с матриксом для автоматической гомогенизации.
- Твёрдотельный термостат, желателен 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
- β-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,
в **Раствор для промывки 2**: 35 мл в каждый флакон для 50 выделений, 70 мл в каждый флакон для 250 выделений.
Тщательно перемешайте.
- Растворите **Протеиназу К** (каждую пробирку) в 520 мкл деионизованной воды. Рекомендуется расфасовать полученный раствор **Протеиназы К** на аликвоты по 10 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!**

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

Выделение ДНК из животных тканей

1. Гомогенизируйте образец.

В случае ручной гомогенизации - приготовьте микроцентрифужную пробирку ёмкостью 1.5 мл и поместите в неё образец (до 100 мг животной ткани). Налейте в ступку жидкий азот и поместите в ступку пробирку с образцом. Гомогенизируйте образец охлаждённым пестиком. Налейте в пробирку с гомогенатом 500 мкл **Буфера для лизиса LBT** и 10 мкл β-меркаптоэтанола. Перемешайте.

В случае механической гомогенизации налейте в пробирку для гомогенизации с соответствующим матриксом* 500 мкл **Буфера для лизиса LBT** и 10 мкл β-меркаптоэтанола. Поместите в пробирку образец и гомогенизируйте в соответствии с рекомендациям производителя гомогенизатора.

Примечание: * - в случае использования гомогенизатора FastPrep-24 5G (MP Biomedicals)

рекомендуются матрикс S того же производителя

- ##### 2. Добавьте к гомогенату 10 мкл раствора **Протеиназы К**. Инкубируйте 30 минут при +56°C в термостате с перемешиванием при 350-400 об/мин. Если термостат без перемешивания - периодически встряхивайте пробирки. **Если выделение происходит из ткани, богатой фиброзными волокнами**

(мышцы, сердце, крупные сосуды, кожа), рекомендуется увеличить объём Протеиназы К до 20 мкл.

3. Центрифугируйте гомогенат при 13000 об/мин (12000g) в течение 10 минут. Отберите супернатант в чистую стерильную 1.5-мл пробирку, по возможности не затрагивая осадка. Центрифугируйте супернатант ещё раз в течение 5 минут при 13000 об/мин (12000g).
4. Перенесите 100-300 мкл супернатанта в чистую стерильную 1.5-мл пробирку, по возможности не затрагивая осадок. Добавьте 1.4 объёма **Раствора для сорбции** (например, к 200 мкл супернатанта надо добавить 280 мкл **Раствора для сорбции**). Тщательно перемешайте. Оставшийся супернатант можно хранить при -86°C в течение 5-7 дней.
5. Внесите в колонку 650 мкл образца. Центрифугируйте 1 минуту при 10000 об/мин (7000g). **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. **Во избежание загрязнения образцов не рекомендуется сливать фильтрат через край.** Для удаления фильтрата используйте пипетку или аспиратор.
6. Внесите в колонку 300 мкл **Буфера WB1** и центрифугируйте 1 мин при 10000 об/мин (7000g). Удалите фильтрат.
7. Повторите п.б.
8. Внесите в колонку 500 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугируйте 1 мин при 13000 об/мин (12000g). Удалите фильтрат.
9. Поместите микроколонку в ту же пробирку и центрифугируйте 1 минуту при 13000 об/мин (12000g) для удаления остатков буфера.
10. Поместите микроколонку в чистую стерильную 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 1мин при 13000 об/мин (12000g).

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.