

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 слюны

Состав набора

	50 выделений Кат.№ 3403.0050	250 выделений Кат.№ 3403.0250
Буфер LBB	5 мл	25 мл
Раствор для сорбции	14 мл	70 мл
Буфер WB1 (концентрат)	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.	250 шт.
2 мл пробирки для сбора фильтрата	50 шт.	250 шт.

Дополнительные материалы и реагенты

- настольная центрифуга для пробирок типа эппендорф ёмкостью 1.5 мл, позволяющая центрифугировать со скоростью до 13000 об/мин,
- Вортекс,
- твердотельный термостат с перемешиванием,
- набор автоматических пипеток переменного объёма,
- наконечники для автоматических пипеток с фильтрами,
- пробирки типа эппендорф ёмкостью 1.5 мл
- 95-100% этанол,
- автоклавированная деионизованная вода (или вода, свободная от нуклеаз),
- опционально - РНКазы и β-меркаптоэтанол.

Перед началом работы:

- добавьте 96-100% этанол в **Буфер WB1** (10 мл для 50 выделений, 25 мл в каждый флакон для 250 выделений) и в **Раствор для промывки 2** (35 мл для 50 выделений, 70 мл в каждый флакон для 250 выделений). 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!**

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

Выделение геномной ДНК из слюны

1. К 100 мкл образца добавьте 100 мкл **Буфера LBB**, тщательно перемешайте на Вортексе.
2. Добавьте 2 мкл раствора **Протеиназы К**. Тщательно перемешайте и инкубируйте в шейкере при +56°C 30 минут.
3. Добавьте 280 мкл **Раствора для сорбции** и перемешайте на Вортексе.
4. Внесите в колонку выделяемый образец. Центрифугируйте 1 минуту при 13000 об/мин. **Необходимо учитывать, что объём колонки составляет 650 мкл.**
5. Нанесите на фильтр колонки 300 мкл **Буфера WB1** и центрифугируйте 1 минуту при 13000 об/мин. Удалите фильтрат.
6. Повторите п. 5.
7. Нанесите на фильтр колонки 500 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугируйте 1 минуту 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 раствора.
10. Поместите микроколону в новую 1.5 мл пробирку. Нанесите в центр мембраны 30-100 мкл деионизованной воды и подождите 1-3 минуты.
Минимальный рекомендуемый объём воды для элюции – 30 мкл, максимальный рекомендуемый – 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.

Примечания

1. На стадии лизиса (п.2) можно добавить 1.5М раствор β-меркаптоэтанола из расчета 10 мкл на 100 мкл образца. Это не обязательно, но положительно влияет на целостность выделенной ДНК.
2. Количество реагентов, входящих в Набор, рассчитано на 50 или 250 образцов по 100 мкл. Объём образца может быть увеличен до 200 мкл, при этом объёмы **Буфера LBB**, **Протеиназы К** и **Раствора для сорбции** увеличиваются пропорционально.
Если требуется большее количество ДНК (ёмкость сорбирующей мембраны - до 20 мкг геномной ДНК):
 - 2.1 Добавьте к образцу равный объём буфера PBS,
 - 2.2 Тщательно перемешайте на Вортексе и центрифугируйте в течение 10 минут при 3000 об/мин.
 - 2.3 Удалите часть супернатанта так, чтобы оставшийся объём составлял около 200 мкл.
 - 2.4 Добавьте 200 мкл **Буфера LBB** и 4 мкл **Протеиназы К**.
 - 2.5 После инкубации добавьте 560 мкл **Раствора для сорбции**.
 - 2.6 Так как объём образца превышает объём колонки, последовательно нанесите на колонку по 650 мкл образца, удаляя каждый раз жидкость из пробирки для сбора фильтрата после центрифугирования.
 - 2.7 Далее проводите выделение ДНК по описанной выше методике (начиная с п.5).
3. Если требуется препарат, свободный от примесей РНК, то:
 - 3.1 После добавления **Буфера LBB** добавьте к образцу **РНКазу А** до концентрации 100 мкг/мкл,
 - 3.2 Инкубируйте 10 минут при +37°C.
 - 3.3 Далее проводите выделение ДНК по описанной выше методике (начиная с п.2).

Срок годности и условия хранения

Все реагенты (кроме раствора **Протеиназы К**) могут храниться при комнатной температуре (+15 - +25°C).

Раствор **Протеиназы К** необходимо хранить при -20°C.

Срок годности: 12 месяцев с даты изготовления.