

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.№ 3489 для выделения ДНК из широкого спектра биологических образцов

Набор diaGene для очистки ДНК из реакционных смесей (расширенный) на спин-колонках

Состав набора

	50 выделений 3490.0050	250 выделений 3490.0250
Буфер Y	18 мл	2 x 45 мл
Буфер Z	30 мл	2 x 75 мл
Буфер W	8 мл	3 x 15 мл
Буфер E	5 мл	25 мл
Спин колонки	50 шт.	5 x 50 шт.
2 мл пробирки для сбора фильтрата	50 шт.	5 x 50 шт.

Набор предназначен для очистки ДНК из реакционных смесей: после ПЦР, лигирования, рестрикции и т.д. Очистка ДНК происходит за счёт избирательного связывания с сорбентом колонок diaGene.

Буферы Y и Z содержат в своем составе индикатор кислотности. При оптимальном для сорбции pH индикатор имеет желтый цвет. Если после добавления к образцу буферов, цвет индикатора отличается от желтого, к смеси необходимо добавить 10 мкл 3М ацетата Na (pH 5.0). Буфер Y предназначен для очистки ДНК от низкомолекулярных примесей - солей и нуклеотидтрифосфатов. Буфер Z предназначен для удаления из образца не только низкомолекулярных соединений, но и коротких фрагментов ДНК (до 100 нуклеотидов), например, ПЦР-праймеров.

Срок годности и особенности хранения

Все реактивы и колонки хранить при комнатной температуре (+15 · +25 °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

- Микроцентрифуга для пробирок типа эппендорф ёмкостью 1.5-2 мл с максимальной скоростью центрифугирования не менее 13000 об/мин,
- Дозаторы переменного объёма и наконечники с фильтрами к ним,
- Стерильные пробирки типа эппендорф ёмкостью 1.5 мл, свободные от нуклеаз,
- 96% этанол,
- Изопропанол,
- 3М раствор ацетата натрия с pH 5.0,
- Деионизованная автоклавированная вода или вода, свободная от нуклеаз.

Очистка ДНК из реакционных смесей

Важно:

перед началом работы

- добавьте изопропанол в **Буфер Y** (12 мл для набора на 50 выделений, 30 мл в каждый флакон для набора на 250 выделений). Тщательно перемешайте.
- добавьте 96% этанол в **Буфер W** (32 мл для набора на 50 выделений, 60 мл в каждый флакон для набора на 250 выделений). Тщательно перемешайте.
- Возможно выпадение осадка в **Буфере Z**. Для растворения осадка перед использованием необходимо прогреть буфер в течение 5-10 минут при +55°C. Не нагревать свыше +65°C!

1. К одному объёму реакционной смеси добавьте 5 объёмов **Буфера Y** или 3 объёма **Буфера Z**. Если объём реакционной смеси менее 30 мкл - доведите его до 30 мкл 1-кратным буфером, использованным в реакции. Тщательно перемешайте.
2. Поместите колонку в пробирку для сбора фильтрата. Перенесите в колонку полученный раствор и центрифугируйте 1 минуту при 13000 об/мин. **Необходимо учитывать, что объём колонки составляет 650 мкл.** Если объём образца превышает 650 мкл, последовательно нанесите образец на колонку, удаляя каждый раз жидкость из пробирки для сбора фильтрата.
3. Нанесите на колонку 650 мкл **Буфера W** и центрифугируйте 1 мин при 10000 об/мин. Удалите фильтрат.
4. Центрифугируйте пустую колонку 1 минуту при 13000 об/мин для удаления остатков **Буфера W**.
5. Поместите микроколонку в новую 1.5 мл пробирку. Нанесите в центр мембраны 30-50 мкл **Буфера E** и подождите 1мин.

Минимальный объём **Буфера E** для элюции – 30 мкл, рекомендуемый – 50 мкл. При элюции 30 мкл достигается максимальная концентрация ДНК, но возможны потери.

6. Элюируйте ДНК центрифугированием в течение 1мин при 13000 об/мин. Если ожидаемое количество ДНК менее 50 пг, рекомендуется нанести элюат на колонку и ещё раз центрифугировать при 13000 об/мин в течение 1мин.

Возможные проблемы и методы их решения

Проблема	Возможная причина	Решение
Мало ДНК на выходе	pH раствора не оптимален для связывания ДНК с сорбентом	Обратить внимание на цвет индикатора. Если он отличается от жёлтого - добавить 10 мкл 3М ацетата натрия, pH 5.0
	Перед стадией элюции не полностью удалены остатки Буфера W	Обратить внимание на пункт о дополнительном центрифугировании