

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 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 с протеиназой К
- Кат.№ 3367 для выделения ДНК из сперматозоидов, с протеиназой К
- Кат.№ 3403 для выделения ДНК из слюны
- Кат.№ 3489 для выделения ДНК из широкого спектра биологических образцов

Набор diaGene для выделения РНК из культур клеток

Состав набора

	50 выделений Кат.№ 3317.0050	250 выделений Кат.№ 3317.0250
Лизис-буфер	15 мл	75 мл
Буфер ВВ1	10 мл	50 мл
Буфер WB1	30 мл	2 x 75 мл
Раствор для промывки 2	15 мл	3 x 30 мл
Микроколоники	50 шт.	5 x 50 шт.
2 мл пробирки для сбора фильтрата	50 шт.	5 x 50 шт.

Набор предназначен для выделения тотальной РНК из культуры животных клеток. Выделение РНК начинается с лизиса клеток. Затем лизат наносится на колонку diaGene, и РНК связывается с сорбентом колонки в присутствии хаотропных агентов из буфера ВВ1. Специфичность связывания достигается за счёт рН буфера и концентрации хаотропных агентов. Связанная РНК отмывается от примесей и элюируется в виде чистого препарата. Выход РНК зависит от типа и количества клеток и может составлять до 20 мкг (максимальная ёмкость сорбента колонки).

Срок годности и особенности хранения

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

После вскрытия рекомендуется хранить **Лизис-буфер** при +2 +8°С.

После использования пакет с микроколонками рекомендуется плотно закрывать.

Срок годности: 12 месяцев с даты изготовления.

При транспортировке особые условия не требуются.

Дополнительное оборудование и реагенты

- Термоконтэйнер со льдом.
- 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 автоклавированная вода, вода, обработанная диэтилпиокарбонатом, или вода, свободная от нуклеаз

Выделение РНК из культур клеток

- Перед началом работы добавьте 96% этанол:
в **Буфер ВВ1** - 10 мл для 50 выделений, 50 мл для 250 выделений,
в **Буфер WB1** - 10 мл для 50 выделений, 25 мл в каждый флакон для 250 выделений,
в **Раствор для промывки 2** - 35 мл для 50 выделений, 70 мл в каждый флакон для 250 выделений;
Тщательно перемешайте.
1. Осадите клетки центрифугированием в течение 10 минут при 600 об/мин, удалите супернатант.
 2. Ресуспендируйте осадок из расчёта 250 мкл **Лизис-буфера** на 500 тыс. клеток. Инкубируйте во льду 15 минут.
 3. Центрифугируйте 15 минут при 13000 об/мин, отберите супернатант.
 4. Добавьте к супернатанту равный объём **Буфера ВВ1** и перемешайте.
 5. Внесите в колонку 200 мкл **Буфера WB1** и центрифугируйте 1 мин при 13000 об/мин. Удалите фильтрат.
 6. Внесите в колонку 650 мкл образца из п.4. Центрифугируйте 1 минуту при 13000 об/мин. Удалите фильтрат. **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.
 7. Внесите в колонку 300 мкл **Буфера WB1** и центрифугируйте 1 мин при 13000 об/мин. Удалите фильтрат.
 8. Повторите п.7.

9. Внесите в колонку 500 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугируйте 1 мин при 13000 об/мин. Удалите фильтрат.

10. Повторите п.9.

11. Поместите микроколонку в ту же пробирку и центрифугируйте 1 мин при 13000 об/мин для удаления остатков буфера.

12. Поместите микроколонку в новую 1.5 мл пробирку. Нанесите в центр мембраны 150 мкл деионизованной воды и подождите 1-3 мин.

Минимальный объём воды для элюции – 30 мкл, максимальный – 150 мкл. При элюции 30 мкл достигается максимальная концентрация РНК, при элюции 150 мкл – максимальный выход.

13. Элюируйте РНК центрифугированием в течение 1 мин при 13000 об/мин.

Полученные образцы готовы к постановке ОТ-ПЦР и прочих реакций. Образцы могут быть использованы либо немедленно, либо в течение года при пересаживании РНК этанолом и хранении при -20°C или -70°C.