

Набор diaGene для выделения ДНК из соскобов буккального эпителия

Состав набора

	50 выделений Кат.№ 3322.0050	250 выделений Кат.№ 3322.0250
Лизис-буфер	20 мл	100 мл
Буфер ВВ1 (концентрат)	10 мл	50 мл
Буфер WB1 (концентрат)	30 мл	2 x 75 мл
Раствор для промывки 2 (концентрат)	15 мл	3 x 30 мл
Микроколонки	50 шт	250 шт.
2 мл пробирки для сбора фильтрата	50 шт	250 шт.

Принцип действия

Очистка ДНК на колонках **diaGene** происходит за счёт избирательного связывания ДНК с сорбентом в присутствии хаотропной соли и последующей отмывки связанной ДНК от примесей. Ёмкость сорбента составляет до 25 мкг ДНК.

Дополнительное оборудование и реагенты

- Твердотельный термостат, желателно с функцией перемешивания.
- Микроцентрифуга для пробирок типа эппендорф ёмкостью 1.5-2 мл с максимальной скоростью не менее 13000 об/мин.
- Вортекс
- Дозаторы переменного объёма и наконечники к ним.
- Стерильные пробирки типа эппендорф ёмкостью 1.5 мл, свободные от нуклеаз.
- 96% этанол.
- Деионизованная автоклавированная вода или вода, свободная от нуклеаз.
- Протеиназа К
- РНКаза А (опционально)

Срок годности и особенности хранения

Условия хранения: при комнатной температуре (+15 – +25 °С).

После использования пакет с колонками рекомендуется плотно закрывать

Срок годности: 12 месяцев с даты изготовления.

Выделение ДНК из соскобов буккального эпителия

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** (10 мл для 50 выделений, 25 мл в каждый флакон для 250 выделений). Тщательно перемешайте.

1. Соберите материал надлежащим образом. Поместите дакроновую щеточку в 1.5 мл пробирку. Отрежьте верхнюю часть таким образом, чтобы пробирка закрывалась. Добавьте 400 мкл **Лизис-буфера**, немедленно перемешайте на вортексе. Если необходим препарат ДНК, свободный от РНК, добавьте РНКазу А до 100 мкг/мл (не входит в набор).
2. Добавьте раствор протеиназы К (не входит в набор) до концентрации 200 мкг/мл (4-5 мкл раствора 20 мг/мл).
3. Инкубируйте в твердотельном термостате 15 минут при +56°C с перемешиванием при 350-400 об/мин. Если у термостата нет функции перемешивания - перемешивайте вручную, переворачивая пробирки каждые 3-4 минуты.
4. Осадите капли центрифугированием. Добавьте 400 мкл **Буфера WB1** и перемешайте.
5. Внесите в колонку 200 мкл **Буфера WB1** и центрифугируйте 1 мин при 6000 об/мин. Удалите фильтрат.
6. Внесите в колонку 650 мкл образца. Центрифугируйте 1 минуту при 6000 об/мин. **Необходимо учитывать, что объём колонки составляет 650 мкл.** Поскольку объём образца превышает 650 мкл, последовательно нанесите 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 6000 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 минуту при 13000 об/мин для удаления остатков буфера.
12. Поместите микроколонку в новую 1.5 мл пробирку. Нанесите в центр мембраны 50-100 мкл деионизированной воды и подождите 1 мин.
Минимальный объём элюента – 30 мкл, максимальный – 150 мкл. При элюции 30 мкл достигается максимальная концентрация ДНК, при элюции 150 мкл – максимальный выход.
13. Элюируйте ДНК центрифугированием в течение 1 мин при 13000 об/мин.

Полученные образцы готовы к постановке ПЦР, секвенирования, рестрикции, лигирования и прочих реакций. Образцы могут быть использованы либо немедленно, либо в течение месяца при хранении при -20°C.