



Инструкция по применению набора для выделения
ДНК из соскобов буккального эпителия

На 50 выделений

Состав набора:

Микроколонки	50 шт
2 мл пробирки	50 шт
Лизис-буфер	20 мл
Буфер ВВ1 (концентрат)	10 мл
Буфер WB1 (концентрат)	30 мл
Раствор для промывки 2 (концентрат)	15 мл

Примечание:

- В **Буфер ВВ1** перед использованием необходимо добавить 10 мл этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.
- В **Буфер WB1** перед использованием необходимо добавить 10 мл этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.
- В **Раствор для промывки 2** перед использованием необходимо добавить 35 мл этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.
- Избавиться от РНК можно при помощи обработки препарата РНКазой. Для этого необходимо добавить РНКазу (не предоставляется) до рабочей концентрации в п. 1
- Если дополнительно не указано, то все этапы выделения выполняются при комнатной температуре.

1. Собрать материал надлежащим образом. Поместить дакроновую щеточку в эппендорф. Отрезать верхнюю часть таким образом, чтобы пробирка закрывалась. Добавить к 400 мкл **лизис буфера**, немедленно перемешать на Vortex'e.
2. Добавить **Диспазу** (либо **Протеиназу К**) (1/500 – 1/1000, 4-8 мкл) до концентрации 100 мкг/мл.
3. Инкубировать 15 минут при 56⁰С.
4. Добавить 400 мкл буфера **ВВ1** и перемешать.
5. Внести в колонку 200 мкл **WB1**. Центрифугировать 1 мин при 6000 g. Удалить фильтрат.
6. Внести в колонку 700 мкл образца из п.4. Центрифугировать 1 мин при 6000 g. Удалить фильтрат.
7. Нанести на фильтр 300 мкл **WB1**. Центрифугировать 1 мин при 6000 g.
8. Повторить п. 7.
9. Нанести на фильтр 500 мкл **WB2 (Раствор для промывки 2)**. Центрифугировать 1 мин при 13000 g.
10. Повторить п. 9.
11. Вылить содержимое 2 мл пробирки. Центрифугировать 1 мин при 13000 g для удаления остатков буфера.

12. Перенести колонку в новую 1,5 мл пробирку. Нанести на фильтр 100-150 мкл воды. Инкубировать 2 минуты. Центрифугировать 1 мин при 10000g.

Минимальный объем воды, которым можно проводить элюцию – 50 мкл, максимальный – 150 мкл. При элюции 30 мкл воды достигается максимальная концентрация РНК в образце. При элюции 150 мкл – максимальный выход.

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 .

Сроки годности и особенности хранения:

- Все растворы хранить при $+15-25^{\circ}\text{C}$;
- Пробирки и микроколоники хранить в сухом месте при комнатной температуре;
- Срок годности набора - 12 месяцев, начиная с даты изготовления.

