

Компания «Биосилика»
(383)2-999-245
info@biosilica.ru



Инструкция по применению набора для выделения ДНК из культур клеток

На 50 выделений

Состав набора:

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Микроколоники | 50 шт |
| 2 мл пробирки | 50 шт |
| Лизис-буфер | 15 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.
- Если дополнительно не указано, то все этапы выделения выполняются при комнатной температуре.

1. Осадить клетки центрифугированием на низких оборотах, удалить супернатант.
2. Ресуспандировать осадок в 250 мкл **Лизис-буфера**.

*Оптимальный выход достигается при использовании 250 мкл **Лизис-буфера** на 500 тыс. клеток. При выделении ДНК из большого количества клеток рекомендуется увеличить количество **Лизис-буфера**.*

Опционально:

- Добавить **протеиназу К** до концентрации 200 мкг/мл. Инкубировать 15 минут при 60°C
 - Добавить **РНКазу А** до концентрации 100 мкг/мл. Инкубировать 15 минут при 37°C
3. Добавить равный объем **ВВ1** и перемешать.
 4. Внести в колонку 200 мкл **WB1**. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин. Удалить фильтрат.

Необходимо учитывать, что объем колонки составляет 700 мкл. Если объем выделяемого образца превышает 700 мкл, последовательно нанести на фильтр весь образец, каждый раз удаляя фильтрат.
 5. Внести в колонку образец из п. 3. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин. Удалить фильтрат.
 6. Нанести на фильтр 300 мкл **WB1**. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин.
 7. Повторить п. 6.
 8. Нанести на фильтр 500 мкл **Раствор для промывки 2**. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин.

9. Повторить п. 8.
10. Вылить содержимое 2 мл пробирки. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин для удаления остатков буфера.
11. Перенести колонку в новую 1,5 мл пробирку. Нанести на фильтр 50 мкл дистиллированной воды (либо деионизованной, или автоклавированной, обязательно проверенной на отсутствие ДНК-аз и РНК-аз).
Минимальный объем воды, которым можно проводить элюцию – 30 мкл, максимальный – 100 мкл. При элюции 30 мкл воды достигается максимальная концентрация ДНК в образце. При элюции 100 мкл - максимальный выход.
12. Инкубировать микроколону 1-3 мин при комнатной температуре, затем центрифугировать 1 минуту при 13000 об/мин.
13. Полученный раствор содержит очищенную ДНК.

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 микроколону хранить в сухом месте при комнатной температуре;
- Срок годности набора - 12 месяцев, начиная с даты изготовления.

