

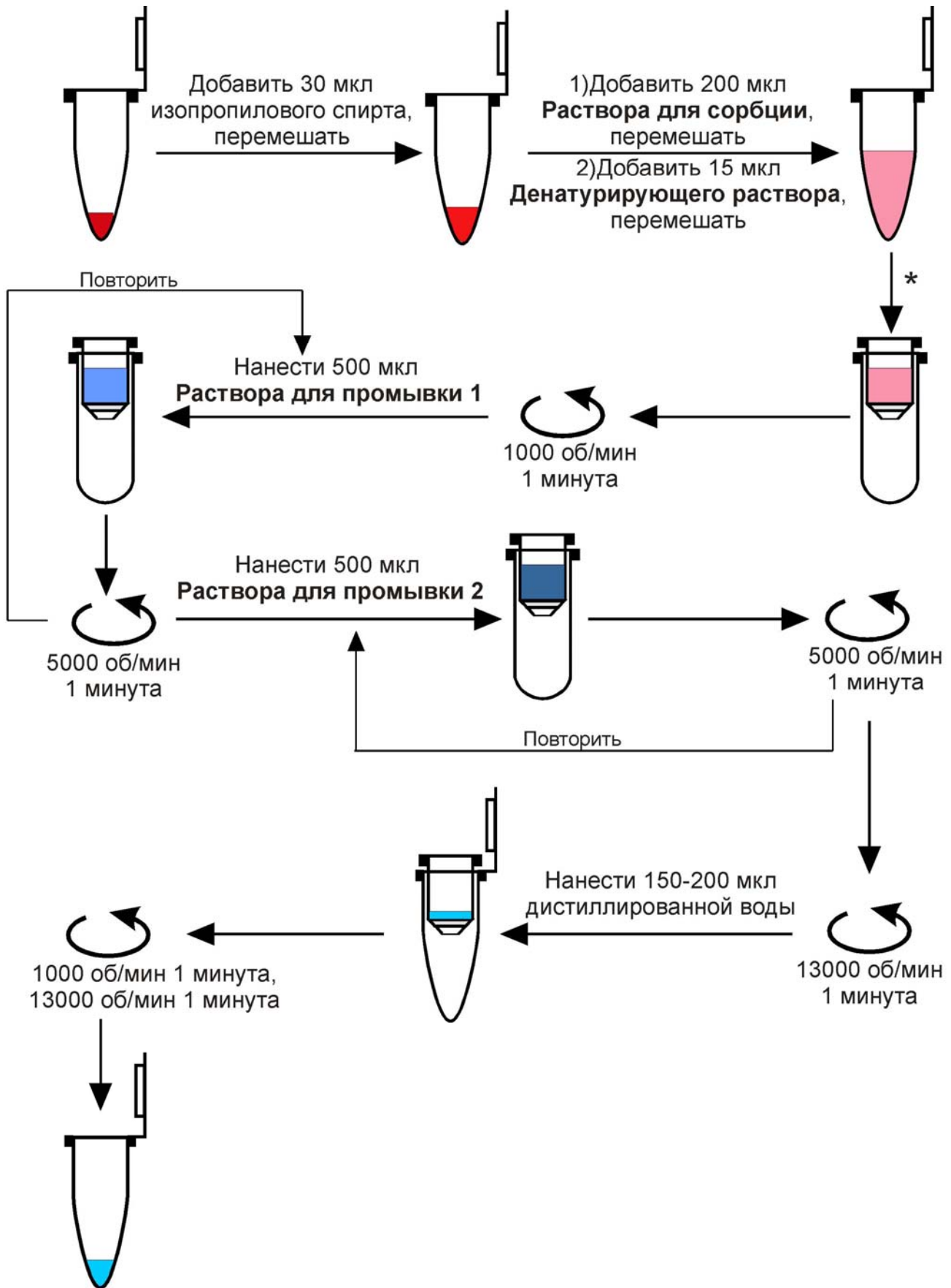


Инструкция по применению набора для выделения ДНК из цельной крови

На 50 выделений

Состав набора:

Микроколонки	50 шт
2 мл пробирки	50 шт
Раствор для сорбции	10 мл
Денатурирующий раствор	0,75 мл
Раствор для промывки 1	55 мл
Раствор для промывки 2 (концентрат)	15 мл



* Предварительно внести в колонку 100 мкл **Раствора для промывки 1**

Примечание:

- **Раствор для сорбции** перед использованием необходимо прогреть в течение 5-10 минут при $t^0=55-56^{\circ}\text{C}$ до полного растворения солей. **Нельзя нагревать раствор более 65°C .**
- 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. К 100 мкл крови добавить 30 мкл изопропилового спирта, тщательно перемешать.
2. Добавить 200 мкл **Раствора для сорбции**, тщательно перемешать и добавить 15 мкл **Денатурирующего раствора**, перемешать на Vortex, инкубировать на шейкере 5-10 мин.
3. Внести в колонку с фильтром 100 мкл **Раствора для промывки 1** и, затем, выделяемый образец. Центрифугировать 1 мин при 1000 об/мин, если образец не полностью прошел через фильтр, центрифугировать дополнительно 1 мин при 5000 об/мин.

Удалить фильтрат из 2 мл пробирок в следующей последовательности:

- Извлечь **микроколону** из 2 мл пробирки.
- Удерживая **микроколону** в руке, удалить раствор из 2 мл пробирки с помощью вакуумного насоса либо с помощью микропипетки, используя отдельные наконечники для каждого образца, не касаясь стенок пробирки.
- Вернуть **микроколону** в 2 мл пробирку.

Для равномерной отмытки мембраны необходимо после каждого центрифугирования поворачивать микроколону в роторе центрифуги на 180° .

4. Нанести на фильтр 500 мкл **Раствора для промывки 1** и центрифугировать 1 мин при 5000 об/мин. Удалить фильтрат (см.п.3).
5. Повторить п.4.
6. Нанести на фильтр 500 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугировать 1 мин при 5000 об/мин. Удалить фильтрат (см.п.3).
7. Повторить п.6.
8. Центрифугировать пробирку с микроколонкой 1 минуту при 13000 об/мин для удаления остатков раствора.
9. Извлечь микроколону и поместить ее в новую пробирку объемом 1,5 мл. Поставить новые пробирки с микроколонками в штатив. *(Микроколонки должны располагаться **ВЕРТИКАЛЬНО!** Необходимо следить, чтобы капли вносимой воды попадали строго на центр фильтра).*
10. Нанести на фильтр 150-200 мкл дистиллированной воды (либо деионизированной, или автоклавированной, обязательно проверенной на отсутствие ДНК-аз и РНК-аз).
11. Инкубировать микроколону 3-5 мин при комнатной температуре, затем центрифугировать 1 мин при 1000 об/мин и 1 минуту при 13000 об/мин.
12. Убрать колонку с фильтром и перенести выделенный образец ДНК в новую пробирку. 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 микроколонки хранить в сухом месте при комнатной температуре;
- Срок годности набора-12 месяцев, начиная с даты изготовления.