

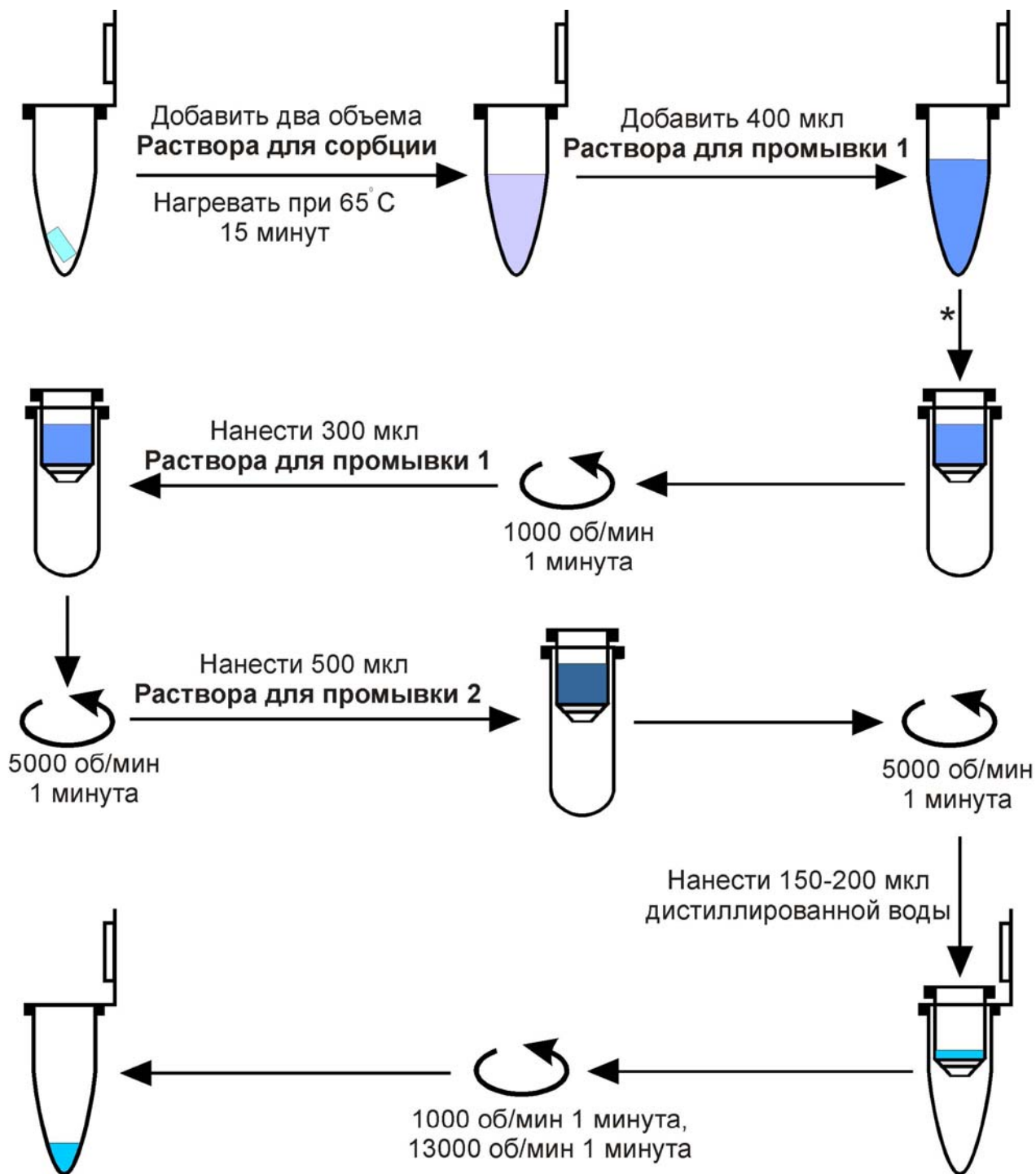


Инструкция по применению набора для экстракции ДНК из агарозного геля

На 100 выделений

Состав набора:

Микроколонки	100 шт
2 мл пробирки	100 шт
Раствор для сорбции	40 мл
Раствор для промывки 1	80 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 $t^0=55-56^0\text{C}$ до полного растворения солей. **Нельзя нагревать раствор более 65^0C .**
- 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.
- Обычно используется Low-melting агароза (0.5-1%), в случае использования геля более высокой процентности необходимо увеличить объем добавляемого **Раствора для сорбции** в соответствующее количество раз.

1. Вырезать нужный участок агарозного геля (объемом порядка 200 мкл), положить его в пробирку и добавить 400 мкл **Раствора для сорбции**, перемешать.
2. Нагреть образец при $t=65^0\text{C}$ в течение 15 мин до полного растворения геля, тщательно перемешать.
3. Добавить к образцу 400 мкл **Раствора для промывки 1** и перемешать на Vortex.
4. Внести в колонку с фильтром 100 мкл **Раствора для промывки 1** и, затем, выделяемый образец. Центрифугировать 1 мин при 1000 об/мин.

Необходимо учитывать, что объем колонки составляет 650 мкл. Если объем выделяемого образца превышает 650 мкл, последовательно нанести на фильтр весь образец, каждый раз удаляя фильтрат (фильтрат можно удалять при помощи вакуумного насоса или пипетки, не касаясь стенок микроколонок).

5. 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 в колбу-ловушку с помощью вакуумного насоса либо с помощью микропипетки, используя отдельные наконечники для каждого образца, не касаясь стенок пробирки.
 - Вернуть **микроколону** в 2 мл пробирку.
6. Нанести на фильтр 300 мкл **Раствора для промывки 1** и центрифугировать 1 мин при 5000 об/мин. Удалить фильтрат (см. п. 5).
7. Нанести на фильтр 500 мкл **Раствора для промывки 2** и центрифугировать 1 мин при 5000 об/мин. Удалить фильтрат (см. п. 5).
8. Извлечь микроколону и поместить ее в новую пробирку объемом 1,5 мл. (*Микроколонки должны располагаться ВЕРТИКАЛЬНО! Необходимо следить, чтобы капли вносимой воды попадали строго на центр фильтра*). Нанести на фильтр 150-200 мкл дистиллированной воды (либо деионизованной, или автоклавированной, обязательно проверенной на отсутствие ДНК-аз и РНК-аз).
9. Инкубировать 3-5 мин, потом центрифугировать 1 мин при 1000 об/мин, затем 1 минуту при 13000 об/мин.
10. 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 -20^0C .

Сроки годности и особенности хранения:

- Все растворы хранить при $+15-25^0\text{C}$;
- Пробирки и микроколонки хранить в сухом месте при комнатной температуре;
- Срок годности набора-12 месяцев, начиная с даты изготовления.