

**Rai**ssol<sup>TM</sup>  
**Bio**

**Набор реагентов для выделения ДНК из амниотической жидкости  
«Amex»**

## #amextest-25 #amex-50 #amex-250

**Набор реагентов предназначен для выделения ДНК из амниотической жидкости. В набор включены все необходимые реагенты для выделения ДНК:**

1. Лизирующий буфер – на основе лаурилсульфата натрия и вспомогательных компонентов для оптимального лизиса;
2. Осаждающий буфер 1 – для преципитации белков;
3. Осаждающий буфер 2 – для преципитации НК;
4. Промывочный буфер 1 – для промывки нуклеиновых кислот от клеточных метаболитов и солей;
5. Промывочный буфер 2 – для промывки нуклеиновых кислот от клеточных метаболитов и солей;
6. Элюирующий буфер – для элюции и хранения НК, рН=8,9;
7. Протеиназа К – для более быстрого и полного лизиса.

**Буферы** набора «Amex» могут храниться при температуре от +4 до +25°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. В случае наличия осадка при минимальных температурах хранения, растворы следует нагреть до комнатной температуры.

Фермент **Протеиназа К** хранится при -20°C, срок хранения 12 месяцев. Допускается кратковременное повышение температуры хранения (транспортировки) от +4°C до +25°C не более 5 суток.

Необходимые материалы и оборудование: микроцентрифужные пробирки объемом 1,5-2 мл; штатив для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл; автоматические дозаторы переменного объема на 2-20 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл и соответствующие одноразовые наконечники; вортекс; твердотельный термостат с возможностью поддержания температурного режима в диапазоне 25-80°C для пробирок объемом 1,5-2 мл; скоростная микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5-2 мл до 13 тыс. об/мин; штатив-охладитель или ледогенератор.

## Amex

### Проведение процедуры выделения ДНК

#### Лизис

1. В пробирки объемом 1,5-2 мл поместить 1,5-2 мл амниотической жидкости.
2. Центрифугировать пробирки в течение 3 минут при 13 тыс. об/мин, далее, не задевая осадок, удалить супернатант.
3. К полученному осадку добавить 1,5-2 мл амниотической жидкости.
4. Повторить пункт 2.
5. К полученному осадку клеток добавить 300 мкл лизирующего буфера и 15 мкл Протеиназы К, интенсивно встряхнуть на вортексе до полного разрушения конгломерата клеток.
6. Инкубировать в термостате при 56-60°C в течение 25 минут, периодически встряхивая.
7. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
8. Поместить пробирки на лед или в холодный штатив и инкубировать в течение 1 минуты. В случае отсутствия охлаждающих элементов инкубировать при комнатной температуре в течение 5-10 минут до полного остывания пробирок.

#### Сорбция и осаждение НК

1. Добавить к смеси 50 мкл осаждающего буфера 1.
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Инкубировать в течение 3-5 минут на льду или в холодном штативе, периодически перемешивая образцы. В случае отсутствия охлаждающих элементов инкубировать при комнатной температуре в течение 5-10 минут.
4. Центрифугировать пробирки в течение 5 минут при 13 тыс. об/мин.
5. Аккуратно, не задевая осадок, перенести 300-330 мкл супернатанта в новую пробирку объемом 1,5-2 мл.
6. Добавить 330 мкл осаждающего буфера 2 и перемешать с помощью многократного переворачивания пробирки.

*Опционально:* для увеличения выхода ДНК рекомендуется инкубировать пробирки в морозильной камере при -20°C не менее 25 минут.

7. Центрифугировать пробирки в течение 5 минут при 13 тыс. об/мин, после чего удалить супернатант.

#### Промывка НК

1. Добавить в пробирки 700 мкл промывочного буфера 1.
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе.
3. Центрифугировать пробирки в течение 5 минут при 13 тыс. об/мин, после чего удалить супернатант.
4. Добавить в пробирки 700 мкл промывочного буфера 2.
5. Повторить пункты 2,3.
6. Высушить образцы с открытыми крышками в термостате при 42°C или в центрифуге-концентраторе при 30°C до полного испарения промывочного раствора.

#### Элюция НК

1. Добавить в пробирки 50-100 мкл элюирующего буфера.
2. Инкубировать в термостате при 56-60°C в течение 5 минут, периодически перемешивая на вортексе.

Полученные растворы нуклеиновых кислот могут храниться до 7 дней при температуре от +2°C до +4°C и до двух лет при температуре -20°C. По соотношению показателей поглощения на A260/A280 чистота полученного раствора ДНК соответствует  $\geq 1,7$ .