



**Набор реагентов для выделения ДНК из цельной крови
«GM Blood N»**

#bloodNtest-25 #bloodN-50 #bloodN-250

Набор реагентов предназначен для выделения ДНК из цельной крови. В набор включены все необходимые реагенты для выделения ДНК:

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

Буферы набора «GM Blood N» могут храниться при температуре от +4°C 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 составляет 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 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.

GM Blood N

Проведение процедуры выделения ДНК

Лизис

1. В пробирки объемом 1,5-2 мл поместить 300 мкл крови и добавить 900 мкл RBC буфера.
2. Встряхнуть пробирки на вортексе.
3. Инкубировать в течение 5-10 минут при комнатной температуре.
4. Центрифугировать в течение 1 минуты при макс. об/мин (не менее 13 тыс. об/мин для настольных центрифуг), далее удалить супернатант.
5. К полученному осадку клеток добавить 300 мкл лизирующего буфера и 20 мкл Протеиназы К, интенсивно встряхнуть на вортексе до полного разрушения конгломерата клеток.
6. Инкубировать в термостате при 55-60°C в течение 15-25 минут, периодически встряхивая.
7. Перенести 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 смеси.

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 во льду или в холодном штативе. 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 пятикратного переворачивания пробирки.
7. Для увеличения выхода ДНК рекомендуется инкубировать пробирки в морозильной камере при -20°C в течение 25 минут.
8. 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 60°C в течение 5 минут, периодически перемешивая.

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 соответствуют $\geq 1,7$.