

RaiisolTM
Bio

**Набор реагентов для выделения ДНК из плазмы крови
«CF Extra»**

#cfextratest-10 #cfextra-25 #cfextra-50

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

1. Лизирующий буфер – на основе хаотропных агентов и вспомогательных компонентов для оптимального лизиса;
2. Связывающий буфер – для сорбции НК на магнитных частицах;
3. Ресуспандирующий буфер – для разрушения конгломерата частиц;
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, pH=8,9;
7. Протеиназа К – для более быстрого и полного лизиса;
8. Магнитные частицы – для сорбции НК.

Буферы набора «CF Extra» 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.

Магнитные частицы могут храниться при температуре от +4°C до +25°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. Перед применением суспензию частиц необходимо тщательно взбалтывать до однородного состояния.

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: пробирки типа фалькон объемом 15 мл; штатив для пробирок типа фалькон; 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; водяная баня с возможностью поддержания температурного режима в диапазоне 56-65°C; центрифуга для пробирок типа фалькон объемом 15 мл; 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; магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл; штатив-охладитель или ледогенератор.

CF Extra

Проведение процедуры выделения ДНК

Лизис

1. В пробирки объемом 15 мл поместить 4,5 мл плазмы крови.
2. Добавить 900 мкл лизирующего буфера и 20 мкл Протеиназы К.
3. Перемешать пробирки с помощью переворачивания.
4. Инкубировать пробирки на водяной бане при 56-60°C в течение 60-90 минут, перемешивая каждые 10-20 минут.
5. Перенести пробирки на лед и инкубировать в течение 2-3 минут. В случае отсутствия охладительных элементов инкубировать при комнатной температуре в течение 10-15 минут до полного остывания пробирок.

Сорбция НК

1. Добавить к смеси 9,6 мл связывающего буфера и 130 мкл магнитных частиц, хорошо перемешать.
2. Инкубировать пробирки при комнатной температуре в течение 30 минут, перемешивая каждые 5-10 минут, либо установить на вращающийся ротор с минимальной скоростью.

Ресуспендирование

1. Центрифугировать пробирки в течение 5 минут при макс. об/мин, после чего удалить супернатант.
2. Добавить к каждому осадку 850 мкл ресуспендирующего буфера и разрушить конгломерат частиц с помощью пипетирования.
3. Перенести суспензию в новые пробирки объемом 1,5-2 мл.
4. Инкубировать пробирки на магнитном штативе в течение 5 минут.
5. Аккуратно, не задевая осадок частиц, удалить супернатант.

Промывка НК

1. Добавить в пробирки 900 мкл промывочного буфера 1.
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Инкубировать пробирки на магнитном штативе в течение 3 минут, после чего аккуратно, не задевая осадок частиц, удалить супернатант.
4. Повторить пункты 1-3.
5. Добавить в пробирки 900 мкл промывочного буфера 2.
6. Повторить пункты 2,3.
7. Высушить образцы с открытыми крышками в термостате при 56-60°C в течение 5 -10 минут либо при комнатной температуре в течение 20 минут до полного испарения промывочного раствора.

Элюция НК

1. Добавить в пробирки 50-100 мкл элюирующего буфера.
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Инкубировать в термостате при 56-60°C в течение 10 минут, периодически перемешивая. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
4. Инкубировать на магнитном штативе в течение 3 минут.
5. Перенести элюат в новые пробирки объемом 1,5-2 мл.

Опционально: рекомендуется провести дополнительное центрифугирование элюата на максимальной скорости для удаления остаточного количества магнитных частиц.

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. Показатели полученных растворов ДНК соответствуют диапазону концентраций 0,3-1 нг/мкл при измерении с помощью набора Spectra Q HS (Raissol™, Россия) на приборе Qubit (Thermo Fisher Scientific, США). Спектр размера устанавливается с помощью электрофореза на приборе Caliper (Perkinelmer, США). Стандартный диапазон 160-200 п.н.