



**Набор реагентов для выделения ДНК из срезов FFPE-блоков
методом сорбции на магнитных частицах
«FFPE MAG»**

#FFPEMAGtest #FFPEMAG-50 #FFPEMAG-250



Набор не имеет токсичных компонентов, а также не требует кипячения.

Набор реагентов предназначен для выделения ДНК из срезов тканей, фиксированных в формалине и заключенных в парафиновые блоки (FFPE). В набор включены все необходимые реагенты для выделения ДНК:

1. Старт буфер – нетоксичный, нелетучий реагент для депарафинизации;
2. Лизирующий буфер – на основе хаотропных агентов и вспомогательных компонентов для оптимального лизиса;
3. Связывающий буфер – для сорбции НК на магнитных частицах;
4. Промывочный буфер 1 – для промывки нуклеиновых кислот от солей;
5. Промывочный буфер 2 – для промывки нуклеиновых кислот от солей;
6. Промывочный буфер 3 – для промывки нуклеиновых кислот от солей;
7. Элюирующий буфер – для элюции и хранения НК, pH=8,9;
8. Протеиназа К – для более быстрого и полного лизиса;
9. РНКаза А – для удаления РНК;
10. Магнитные частицы – для сорбции НК.

Буферы набора «**FFPE MAG**» 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.

Старт буфер набора «**FFPE MAG**» хранится при температуре от +20°C до +25°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя

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.

Ферменты **Протеиназа К** и **РНКаза А** необходимо хранить при -20°C, срок хранения составляет 12 месяцев.

Необходимые материалы и оборудование: микроцентрифужные пробирки объемом 1,5-2 мл; магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок 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 14 тыс. об/мин.

FFPE MAG

Проведение процедуры выделения ДНК

Депарафинизация и лизис

1. К срезу FFPE-блока добавить 600 мкл старт буфера и 400 мкл лизирующего буфера, перемешать образцы на вортексе.
2. Инкубировать в термостате при 60°C в течение 15 минут до полного растворения парафина, периодически перемешивая образцы.
3. Центрифугировать образцы в течение 30 секунд, после чего аккуратно удалить большую часть верхней органической фазы. Рекомендуется оставить тонкий слой верхней фазы во избежание потери ткани. **Органическая фаза не токсична и не влияет на дальнейшую работу набора.**
4. Добавить к образцам 30 мкл Протеиназы К, перемешать, сбросить капли кратковременным центрифугированием.
5. Инкубировать образцы при 60°C не менее 3 часов. Рекомендуется инкубировать образцы в течение ночи для полного лизиса ткани и большего выхода НК.
6. Центрифугировать образцы при макс. об/мин в течение 3 минут, перенести максимальный объем супернатанта в новые пробирки объемом 1,5-2 мл.
7. Добавить к образцам 5 мкл РНКазы А, аккуратно перемешать, сбросить капли кратковременным центрифугированием.
8. Инкубировать образцы в течение 15 минут при комнатной температуре.

Сорбция НК

1. Добавить в пробирки 600 мкл связывающего буфера и 60 мкл магнитных частиц, перемешать.
2. Инкубировать образцы в течение 5 минут при комнатной температуре, периодически перемешивая.
3. Сбросить капли кратковременным центрифугированием.
4. Инкубировать образцы на магнитном штативе в течение 2 минут. Аккуратно удалить супернатант, не задевая осадок магнитных частиц.

Промывка НК

1. Добавить в пробирки 600 мкл промывочного буфера 1.
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Инкубировать пробирки на магнитном штативе в течение 1 минуты, после чего аккуратно, не задевая осадок частиц, удалить супернатант.
4. Добавить в пробирки 600 мкл промывочного буфера 2.
5. Повторить пункты 2-3.
6. Добавить в пробирки 600 мкл промывочного буфера 3.
7. Повторить пункты 2-3.
8. Высушить образцы с открытыми крышками в термостате в течение 5-7 минут при 60°C до полного испарения промывочного буфера 3.

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 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 4 дней при температуре от +2°C до +4°C и более длительное время при температуре -20°C.