

**RaissolTM
Bio**

**Набор реагентов для выделения ДНК из тканей
млекопитающих методом сорбции на магнитных частицах
«Tissue M»**

#tissueMtest-10 #tissueM-50 #tissueM-250

Набор реагентов предназначен для выделения ДНК из тканей млекопитающих, ворсин хориона, волосяных фолликулов, фиксированных пятен крови и др. В набор включены все необходимые реагенты для выделения ДНК:

1. Лизирующий буфер 1 – на основе детергентов и вспомогательных компонентов для оптимального лизиса;
2. Лизирующий буфер 2 – на основе хаотропных агентов и вспомогательных компонентов для оптимального лизиса;
3. Связывающий буфер – для повышения сорбции НК на магнитных частицах;
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;
8. Магнитные частицы – для сорбции НК.

Буферы набора «Tissue M» 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: микроцентрифужные пробирки объемом 1,5-2 мл; магнитный 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.

Tissue M

Проведение процедуры выделения ДНК

Лизис

1. В пробирки объемом 1,5-2 мл поместить исследуемые образцы.
2. В случае хранения образцов в физиологическом растворе центрифугировать образцы в течение 5 минут при 13 тыс. об/мин, после чего полностью удалить супернатант.
3. Добавить к образцам 200 мкл лизирующего буфера 1, 30 мкл Протеиназы К, интенсивно перемешать на вортексе.

Опционально: возможно использование РНКазы А любого производителя в концентрациях, рекомендованных производителем.

4. Инкубировать образцы в термостате при 56°C в течение 2-5 часов, периодически встряхивая.
5. Центрифугировать образцы в течение 5 минут при 13 тыс. об/мин., после чего перенести 200 мкл супернатанта в новые пробирки объемом 1,5-2 мл.
6. Внести 200 мкл лизирующего буфера 2, перемешать пробирки на вортексе и сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

Сорбция НК

1. Добавить к смеси 200 мкл связывающего буфера и 50 мкл магнитных частиц, интенсивно перемешать пробирки на вортексе.
2. Инкубировать в течение 3-5 минут при комнатной температуре, периодически встряхивая.
3. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
4. Установить пробирки на магнитный штатив и инкубировать в течение 3-5 минут.
5. Аккуратно, не задевая осадок, удалить супернатант.

Промывка НК

1. Добавить в пробирки 700 мкл промывочного буфера 1, интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
2. Инкубировать на магнитном штативе в течение 1-2 минут.
3. Аккуратно, не задевая частицы, удалить супернатант.
4. Добавить в пробирки 700 мкл промывочного буфера 2, интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
5. Инкубировать на магнитном штативе в течение 1-2 минут.
6. Аккуратно, не задевая частицы, удалить супернатант.
7. Повторить пункты 4-6.
8. Высушить образцы с открытыми крышками в термостате при 56-60°C или при комнатной температуре 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.
3. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
4. Инкубировать на магнитном штативе в течение 1-2 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. По соотношению показателей поглощения на A260/A280 чистота полученного раствора ДНК соответствует $\geq 1,7$.