

RaissolTM
Bio

**Набор реагентов для выделения ДНК из сложных образцов тканей
животных**

«Tissue Strong»

#tissue_strong_test-10 #tissue_strong-50

Набор реагентов предназначен для выделения ДНК из сложных образцов биоптатов и спиртовых препаратов тканей животных, в т.ч. членистоногих и пр. В набор включены все необходимые реагенты для выделения ДНК:

1. Лизирующий буфер – на основе детергентов и вспомогательных компонентов для оптимального лизиса;
2. Связывающий буфер – для сорбции НК на магнитных частицах;
3. Промывочный буфер 1 – для промывки нуклеиновых кислот от клеточных метаболитов и солей;
4. Промывочный буфер 2 – для промывки нуклеиновых кислот от клеточных метаболитов и солей;
5. Промывочный буфер 3 – 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. РНКаза А – для удаления РНК;
9. Магнитные частицы – для сорбции НК.

Буферы набора «**Tissue Strong**» 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.

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; 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 Strong

Проведение процедуры выделения ДНК

Лизис

1. В пробирки объемом 1,5-2 мл поместить исследуемые образцы.
2. В случае хранения образцов в физиологическом растворе необходимо центрифугировать образцы в течение 5 минут при 13 000 об/мин, после чего полностью удалить супернатант. В случае хранения биоматериала в этиловом спирте образцы необходимо вымачивать в воде не менее 30 минут. Затем центрифугировать образцы в течение 5 минут при 13 000 об/мин, после чего полностью удалить супернатант.
3. Добавить к образцам 400 мкл лизирующего буфера и 30 мкл Протеиназы К, перемешать, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
4. Инкубировать образцы в термостате при 60°C не менее 3-х часов. Рекомендуется инкубировать образцы в течение ночи для более полного лизиса ткани и большего выхода НК.
5. Добавить к образцам 300 мкл связывающего буфера и центрифугировать образцы при макс. об/мин в течение 3 минут. После чего аккуратно перенести максимальный объем супернатанта, не задевая осадок ткани, в новые пробирки объемом 1,5-2 мл.
6. Добавить к образцам 5 мкл РНКазы А, аккуратно перемешать, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
7. Инкубировать образцы в течение 15 минут при комнатной температуре.

Сорбция НК

1. Добавить в пробирки 300 мкл связывающего буфера и 100 мкл магнитных частиц, перемешать.
2. Инкубировать образцы в течение 5 минут при комнатной температуре, периодически перемешивая.
3. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
4. Инкубировать образцы на магнитном штативе в течение 2 минут. Аккуратно удалить супернатант, не задевая осадок магнитных частиц.

Промывка НК

1. Добавить 600 мкл промывочного буфера 1.
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Инкубировать образцы на магнитном штативе в течение 1 минуты, после чего аккуратно, не задевая осадок частиц, удалить супернатант.
4. Добавить 600 мкл промывочного буфера 2.
5. Повторить пункты 2-3.
6. Добавить 600 мкл промывочного буфера 3.
7. Повторить пункты 2-3.
8. Высушить образцы с открытыми крышками в термостате при 56-60°C или при комнатной температуре до полного испарения промывочного буфера 3.

Элюция НК

1. Добавить в пробирки 50-100 мкл элюирующего буфера, интенсивно перемешать пробирки на вортексе.
2. Инкубировать в термостате при 60°C в течение 10 минут, периодически перемешивая.
3. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
4. Инкубировать образцы 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 более длительное время при температуре -20°C.