



**Набор реагентов для выделения ДНК из тканей млекопитающих
«GM Tissue»**

#tissuetest-25 #tissue-50 #tissue-250

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

1. Лизирующий буфер – на основе лаурилсульфата натрия и вспомогательных компонентов для оптимального лизиса;
2. Стабилизатор – 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, pH=8.9;
8. Протеиназа К – для более быстрого и полного лизиса.

Буферы набора «GM Tissue» 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.

Стабилизатор необходимо хранить при температуре от +2°C до +4°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя.

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 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; штатив-охладитель или ледогенератор.

GM Tissue

Проведение процедуры выделения ДНК

Лизис

1. В пробирки объемом 1,5-2 мл поместить исследуемые образцы. В случае хранения образцов в физиологическом растворе центрифугировать образцы в течение 5 минут при 13 000 об/мин, после чего полностью удалить супернатант.
2. Добавить 450 мкл лизирующего буфера, 20 мкл Протеиназы К и 2 мкл Стабилизатора.
Опционально: возможно использование РНКазы А любого производителя в концентрациях, рекомендованных производителем.
3. 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.
4. 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 75 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 500 мкл супернатанта в новую пробирку объемом 1,5-2 мл.
6. Добавить 500 мкл осаждающего буфера 2 и перемешать с помощью пятикратного переворачивания пробирки.
Опционально: для увеличения выхода ДНК рекомендуется инкубировать образцы в морозильной камере при -20°C в течение 25 минут.
7. Центрифугировать пробирки в течение 5 минут при 13 тыс. об/мин, после чего удалить супернатант, не задевая осадок.

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 55-60°C в течение 5 минут, периодически перемешивая на вортексе.

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 $\geq 1,7$.