

# Набор для выделения ДНК из животных тканей DiamondDNA™

В отличие от широко используемых методов и наборов, основанных на сорбции молекул ДНК на частицах оксида кремния (в виде суспензии или микроколоночном исполнении), очистка ДНК с использованием набора DiamondDNA не приводит к сильной деградации молекул нуклеиновых кислот. В результате длина фрагментов составляет более 20 000 пар нуклеотидов.

Использование дополнительной стадии осаждения примесей позволяет еще более повысить качество очистки. В процессе использования DiamondDNA не происходит непосредственное взаимодействие молекул ДНК с сорбентом, что позволяет сохранить целостность двойной спирали. Случайное попадание сорбента в ПЦР-смесь не блокирует амплификацию. Использование протеазы необязательно и оправдано при выделении ДНК из сильно деградировавшего материала.

Выделенная с помощью DiamondDNA ДНК пригодна для дальнейшего гибридационного анализа, постановки ПЦР и секвенирования.

## Принцип выделения ДНК с помощью DiamondDNA™

Методика выделения ДНК из животных тканей и их дериватов с помощью DiamondDNA включает в себя лизис тканей в лизирующем буфере и последовательное осаждение ингибиторов и ДНК из раствора.

При использовании DiamondDNA достигается высокая степень очистки от таких сильных ингибиторов ПЦР как пигменты и полисахариды. Содержание ДНК в растворе после очистки прямо пропорционально содержанию нуклеиновых кислот в исходном объекте, что повышает достоверность при использовании количественных методов анализа (RealTime-ПЦР и детекции по конечной точке).

## Назначение набора DiamondDNA™

Набор предназначен для выделения геномной ДНК из животных тканей (буккальный эпителий, мышцы, кожа, корни волос, кровь, лимфа, культуры клеток, фиксированные препараты – парафиновые блоки).

Только для научных исследований! Не предназначен для клинической диагностики!

## Состав набора DiamondDNA™

1. Лизис-буфер.
2. Протеаза
3. Солевой буфер.
4. Буфер для осаждения ДНК.
6. ТЕ-буфер. Обеспечивает длительное хранение ДНК в растворе.

В наборе не содержатся токсичные вещества и запрещенные к свободному обороту компоненты.

Не проглатывать! При попадании в глаза и на слизистые промыть большим количеством воды.

**Хранение всех компонентов за исключением протеазы возможно при температуре от -20 до +30°C.**

**Протеаза должна храниться при температуре от 0 до +8°C. Транспортировка до 2-х недель допускается при температурах до +30°C.**

## Хранение и подготовка к работе набора DiamondDNA™

При получении набора необходимо поместить фермент (протеазу) в холодильник (+2 до +8°C) для более длительного хранения. Фермент находится в лиофилизированном виде и переносит транспортировку при комнатной температуре без заморозки. Перед использованием фермент необходимо растворить в бидистиллированной или деионизированной воде (1 мл на 1 пробирку). В дальнейшем хранить только замороженным не более 1 месяца.

Остальные компоненты набора необходимо хранить при комнатной температуре (в составе отсутствуют нестойкие соединения). Допускается выпадение осадка солей в буферных растворах при понижении температуры менее +15°C, при этом достаточно нагреть растворы до +60°C для полного восстановления

свойств. В состав набора не входит 70 % этанол, используемый для отмывки ДНК от осаждающего буфера, поэтому его необходимо приготовить заранее.

Срок годности набора составляет не менее 1 года.

### Протокол выделения ДНК

#### Необходимое оборудование и материалы:

Центрифуга для пробирок 1,5 мл ( $\geq 10000g$ ).

Термостат для 1,5 мл пробирок.

Дозаторы (от 1 до 1000 мкл).

Морозильная камера (-16 -20°C).

Наконечники для дозаторов, пробирки 1,5 мл (типа Eppendorf)

**До начала работы:** Включить термостат (+56°C).

Приготовить 70% этанол.

Приготовить протеазу, как описано выше.

1. Примерно 5-10 мг измельченного материала (или несколько корней волос, или 10-20 мкл крови или лимфы), поместить в 1,5 мл пробирку, добавить 500 мкл лизис-буфера и 10 мкл раствора протеазы, Перемешать на вортексе или встряхиванием. Термостатировать при +56°C в течение 15 мин. (до 30 мин. если используется сухой материал, например сухие капли крови или кости).
2. Добавить 150 мкл солевого буфера. 2-3 раза перевернуть пробирку.
3. Поместить в морозильную камеру (-16 -20°C) на 5-7 мин.
4. Центрифугировать 7 мин при 10000 – 13000 об./мин. (должен выпасть осадок протеинов).
5. Супернатант перенести в новую пробирку. Добавить 500 мкл осаждающего буфера, перемешать, переворачивая пробирку несколько раз (не встряхивать на Vortex).
6. Центрифугировать 5 мин при 10000 – 13000 об./мин. Буфер слить.
7. Добавить 500 мкл 70% этанола (в состав набора не входит). Несколько раз перевернуть пробирку
8. Центрифугировать 1 мин при 13000 об./мин. Спирт слить. Важно чтобы не осталось капель спирта (можно убрать с помощью дозатора).
9. Осадок просушить (1 мин при +56°C и 1 мин на воздухе, растворить в 50 – 100 мкл воды или TE-буфера). Раствор ДНК хранить при -20°C.

*Примечание. Не нужно брать слишком много материала. После стадии №4 должно произойти осветление раствора, в противном случае – уменьшить объем пробы. В любом случае раствор ДНК не должен иметь окраски. Осадок ДНК на стадии 9 может быть не виден визуально, но это не значит, что ДНК не выделилась. На стадиях 6-8 ДНК оседает на стенке пробирки и при хорошей очистке практически не видна.*