

**IZOLACE GENOMOVÉ DNA Z TKÁNĚ
JETQUICK Tissue DNA Spin Kit (GENOMED)**

1. Homogenizovat 20 mg izolované tkáně, vložit do 1,5 ml eppendorfovy zkumavky, přidat 200 μ l pufru T1 a vortexovat 10 s.
2. Přidat 25 μ l proteinázy K (20 mg/ml), vortexovat 15 s. Inkubovat 56 °C/2 hod.
3. Přidat 200 μ l pufru T2, vortexovat 15 s a inkubovat 70°C/10min.
4. Roztok zchladit na ledu 1 min, přidat 200 μ l ethanolu (96-100%) a vortexovat 15 s.
5. Vložit kolonku do centrifugační zkumavky, přepipetovat do ní směs získanou v kroku 4 a centrifugovat 14 000 rpm/1 min.
6. Vylít centrifugační zkumavku, vrátit do ní zpět kolonu, přidat do kolony 500 μ l pufru TX a centrifugovat 14 000 rpm/1 min.
7. Vylít centrifugační zkumavku, vrátit do ní zpět kolonku, přidat do kolony 500 μ l pufru T3, centrifugovat 14 000 rpm/1 min a potom vylít centrifugační zkumavku.
8. Centrifugovat 14 000 rpm/2 min. prázdnou kolonku - z důvodu odstranění veškerého T3 pufru.
9. Umístit kolonku do čisté 1,5 ml eppendorf. zkumavky, eluovat DNA 100 μ l elučního pufru (10mM Tris-HCl) předehřátého na 70°C.
10. Inkubovat 2 min. při pokojové teplotě.
11. Centrifugovat 14 000 rpm/2 min - **nevybívat!** DNA se nachází v roztoku uvnitř eppendorfovy zkumavky.
12. Získaná DNA bude vizualizována na 1% agarózovém gelu a následně použita na polymerázovou řetězovou reakci (PCR).