

«Pure Blood DNA_automat»

Набор реагентов для выделения ДНК из цельной крови в ручном режиме

ИНСТРУКЦИЯ по применению

Содержание

1. ОПИСАНИЕ НАБОРА И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ.....	3
1.1. Описание набора.....	3
1.2. Область применения.....	3
2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА.....	4
2.1. Состав набора	4
2.2. Количество анализируемых проб	4
Набор рассчитан для выполнения 100 экстракций при выделении из 100 мкл цельной крови.	4
2.3. Условия хранения и транспортирования, срок годности.....	4
2.4. Дополнительное оборудование и материалы, не входящие в состав набора	4
3. ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК	5
Предварительная подготовка.....	5
3.1. Лизис и сорбция геномной ДНК	5
3.2. Отмывка связанной ДНК.....	5
3.3. Десорбция	5

1. ОПИСАНИЕ НАБОРА И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Описание набора

Комплект реагентов может быть использован для ручного выделения ДНК. Эффективность выделения ДНК зависит от количества и качества исходного материала.

Набор позволяет выделять ДНК из **100 - 200 мкл** цельной крови.

Рекомендуемый объем крови – **200 мкл**.

Приблизительный количественный выход ДНК из **100 мкл** цельной крови составляет от **10** до **120 нг/мкл** при элюции в 50 мкл (выход оценивали по данным ПЦР).

В каждой лаборатории должно быть проведено самостоятельное независимое исследование для определения количественного выхода ДНК.

1.2. Область применения

Набор может быть использован в молекулярно-генетических лабораториях, занимающихся выделением и дальнейшим анализом геномной ДНК.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Состав набора

№	Название	Описание	Количество
1	Лизирующий раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	27 мл
2	Протеиназа К	Кристаллический порошок белого цвета	2*50 мг
3	Буфер для протеиназы К	Бесцветная прозрачная жидкость	2*1 мл
4	Сорбирующий раствор	Суспензия магнитных частиц темно-коричневого цвета	3*500 мкл
5	Осаждающий раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	25 мл
5	Промывочный раствор 1	Бесцветная прозрачная жидкость	50 мл
6	Промывочный раствор 2	Бесцветная прозрачная жидкость	80 мл
7	Промывочный раствор 3	Бесцветная прозрачная жидкость	80 мл
8	Элюирующий раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	15 мл

2.2. Количество анализируемых проб

Набор рассчитан для выполнения 100 экстракций при выделении из 100 - 200 мкл цельной крови.

2.3. Условия хранения и транспортирования, срок годности

Хранить в темноте.

Температура хранения – от +4 до +8 °С в темноте.

Транспортирование – от +4 до +8 °С в темноте.

Срок годности набора – 12 месяцев при соблюдении условий хранения.

2.4. Дополнительное оборудование и материалы, не входящие в состав набора

1. Микроцентрифуга-вортекс.
2. Набор пипеток переменного объема на 10000, 1000 и 200 мкл.
3. Наконечники с аэрозольным барьером для дозатора переменного объема на 10000, 1000 и 200 мкл.

3. ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК

Предварительная подготовка

Перед началом работы все компоненты набора извлечь из холодильника и выдержать при комнатной температуре (21–25 °С) в течение 30 мин.

ВНИМАНИЕ! *Лизирующий раствор* и *Промывочный раствор 1* не должны содержать осадка и должны быть прозрачным после выдерживания в течение 30 мин при 25 °С.

Перед началом работы растворить 50 мг протеиназы К в 1 мл буфера для протеиназы К.

ВНИМАНИЕ! После растворения протеиназы К в буфере, хранить при -20°С.

3.1. Лизис и сорбция геномной ДНК

1. Промаркировать необходимое количество пробирок объемом 2 мл в соответствии с количеством анализируемых проб.
2. Добавить в пробирку **270 мкл Лизирующего раствора**, **20 мкл протеиназы К в буфере**, **15 мкл Сорбирующего раствора**, **250 мкл Осаждающего раствора**.
3. Внести в пробирку с лизирующим раствором из п. 2 по **100 -200 мкл** образца.
4. Закрыть пробирку крышкой, аккуратно встряхнуть на вортексе в течение 10 сек, центрифугировать для сброса капель. Поместить пробирки в термошейкер и инкубировать 15 мин при 65 °С (950 об/мин).

3.2. Отмывка связанной ДНК

1. Центрифугировать пробирку с образцом в течение 10 сек для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1-2 мин. Удалить надосадочную жидкость.
2. Добавить в пробирку **500 мкл Промывочного раствора 1**. Тщательно перемешать содержимое на микроцентрифуге-вортексе до равномерного распределения сорбента в течение 1 мин.
3. Центрифугировать пробирку с образцом в течение 10 сек для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1-2 мин. Удалить надосадочную жидкость.
4. Добавить в пробирку **800 мкл Промывочного раствора 2**. Тщательно перемешать содержимое на микроцентрифуге-вортексе до равномерного распределения сорбента в течение 1 мин.
5. Центрифугировать пробирку с образцом в течение 10 сек для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1-2 мин. Удалить надосадочную жидкость.

6. Добавить в пробирку **800 мкл Промывочного раствора 3**. Тщательно перемешать содержимое на микроцентрифуге-вортексе до равномерного распределения сорбента в течение 1 мин.
7. Центрифугировать пробирку с образцом в течение 10 сек для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1-2 мин. Удалить надосадочную жидкость.

3.3. Десорбция

1. Добавить в пробирку с магнитными частицами **50 - 100 мкл Элюирующего раствора**. Аккуратно перемешать содержимое на микроцентрифуге-вортексе до равномерного распределения сорбента.
2. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать в течение 15 мин при температуре либо 25 °С (950 об/мин) для получения ДНК с характеристиками $260/230 = 1,6 - 1,9$; $260/280 = 1,7 - 2,2$, либо элюировать при температуре 75 - 100°С (950 об/мин) для увеличения выхода ДНК примерно на 30% (при этом соответствующие значения $260/230 = 0,8 - 1,5$; $260/280 = 1,6-1,8$).
3. Центрифугировать пробирки в течение 10 сек для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1-2 мин.
4. Аккуратно, не затрагивая магнитный сорбент, перенести надосадочную жидкость в чистую микроцентрифужную пробирку.

ПРИМЕЧАНИЕ! Если некоторое количество магнитного сорбента было перенесено вместе с раствором ДНК, перед постановкой ПЦР необходимо пробирки с образцами установить на 1-2 мин в магнитный штатив во избежание попадания магнитных частиц в пробирки с ПЦР-смесью и последующего ингибирования реакции ПЦР.

Рекламации на набор реактивов направлять по адресу: 127434 г. Москва, ул. Тимирязевская, 42, тел. (495) 977-74-55, syntol@syntol.ru