

«М-Сорб Экспресс»

**Набор реагентов для экстракции ДНК с использованием автоматической станции
«AutoMate Express»**

ИНСТРУКЦИЯ по применению

Содержание

1.	ОПИСАНИЕ НАБОРА И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ	3
1.1.	Описание набора	3
1.2.	Область применения.....	3
2.	ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	4
2.1.	Состав набора.....	4
2.2.	Количество анализируемых проб.....	4
2.3.	Условия хранения и транспортирования, срок годности.....	4
2.4.	Дополнительное оборудование и материалы, не входящие в состав набора	4
3.	ПРОТОКОЛЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК	5
3.1.	Выделение из физиологических жидкостей.....	5
3.2.	Выделение образцов на предмете носителя	6
3.3.	Выделение из навески ткани.....	8
3.4.	Выделение из буккальных клеток на аппликаторах.....	9
3.5.	Выделение ДНК из волос	11
3.6.	Выделение ДНК из ногтей	12
3.7.	Выделение ДНК из жевательной резинки, сигаретного окурка.....	14

1. ОПИСАНИЕ НАБОРА И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Описание набора

Комплект реагентов предназначен для выделения геномной ДНК на магнитном сорбенте с использованием автоматической станции «AutoMate Express». Эффективность выделения ДНК зависит от количества, качества и типа исходного материала.

Набор «М-Сорб Экспресс» может быть использован для выделения препаратов ДНК из большинства типов биологических образцов: физиологических жидкостей, тканей, мазков, буккального эпителия, биологических образцов, адсорбированных на твердом носителе, суспензии клеток.

Оптимальное количество для выделения зависит от типа, срока хранения и поверхности носителя биологического образца.

Примеры соответствующих типов образцов и их количеств, взятых для выделения препаратов ДНК, приведены в Таблице 1.

Приблизительный количественный выход ДНК из 10 мкл не замороженной, жидкой крови составляет 30 нг/мкл (при элюции в 100 мкл).

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

Таблица 1

Тип образца	Максимальное количество
Жидкая кровь, сперма	до 10 мкл
Слюна	до 100 мкл
Кровь (на картах или на тканевом носителе)	до 25 мм ²
Физиологические жидкости (слюна, сперма) на тканевом носителе	до 25 мм ²
Навеска ткани	20 мг
Буккальный эпителий, мазки на специализированных аппликаторах/ватных палочках	не более 1 аппликатора / ватной палочки
Суспензия клеток (10 ⁶)	400 мкл
Волосы	10 луковиц длиной не более 3-5 мм
Ногти	3 ногтевые пластины длиной не более 3-5 мм
Жевательная резинка	Не более 1/8 части
Сигаретный окурок	5 мм сигаретной бумаги от края фильтра
Клетки на клейкой ленте	до 2 см ²
Ткань, фиксированная парафином	2-3 среза

1.2. Область применения

Набор может быть использован в молекулярно-генетических лабораториях, занимающихся выделением геномной ДНК с использованием автоматической станции «AutoMate Express» и дальнейшим ее анализом.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Компоненты набора являются одноразовыми.

Набор реагентов «М-Сорб Экспресс» не требует постановки калибровочных образцов.

2.1. Состав набора

№	Название	Описание	Кол-во
1.	Лизирующий раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	26 мл
2.	Картриджи	Пластиковый контейнер с отсеками, содержащими реагенты для выделения	52 шт
3.	Наконечники	Наконечники с фильтром в футляре для автоматической станции выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»	52 шт
4.	Колонки	Колонки с фильтром для проведения лизиса	52 шт
5.	Пробирки для колонок	Пробирки для колонок с фильтром для проведения лизиса	52 шт
6.	Пробирки для сбора элюата	Пробирки с крышкой для препарата нуклеиновых кислот	52 шт

2.2. Количество анализируемых проб

Набор для выделения препаратов ДНК рассчитан для выполнения 52 экстракций.

2.3. Условия хранения и транспортирования, срок годности

Хранить в темноте.

Температура хранения – от +4 до +25°C.

Транспортирование – при температуре +4 до +25°C.

Срок годности набора – 14 месяцев

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

1. Термошейкер или Термостат;
2. Высокоскоростная центрифуга;
3. Микроцентрифуга-вортекс;
4. Набор пипеток переменного объема на 1000, 200, 20 и 10 мкл.;
5. Наконечники с аэрозольным барьером для дозатора переменного объема на 1000, 200, 20 и 10 мкл.
6. Автоматическая станция для выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»

3. ПРОТОКОЛЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК

3.1. Выделение из физиологических жидкостей

Тип образца	Максимальное количество
Жидкая кровь, сперма	до 10 мкл
Слюна	до 100 мкл

Предварительная подготовка

Если набор хранился в холодильнике перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течении 30 минут. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50-60°C до полного растворения осадка.

Проведение лизиса

1. Нагреть термошейкер или термостат до 75°C.
2. Вставить колонку в пробирку для колонки.
3. Поместить образец в колонку.
4. Добавить к образцу 400 мкл *Лизирующего раствора*.
5. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки, встряхнуть на вортексе в течении 5-10 секунд, центрифугировать для сброса капель. Поместить пробирки в термошейкер и инкубировать 15 мин при 75°C (900 об/мин). При отсутствии термошейкера инкубацию можно провести в течении 15 мин в термостате при 75°C, встряхивая пробирки на вортексе и кратко центрифугируя каждые 2-3 мин.
6. После проведения лизиса центрифугировать пробирки для колонок с колонками 2 минуты при 10-15 тыс. для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
7. Установить картриджи (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



8. Осторожно извлечь колонку из пробирки для колонки.
9. Добавить в пробирку 100 мкл *Лизирующего раствора*
10. Установить пробирки для лизата (с перенесенным образцом), наконечники, пробирки для сбора элюата (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



11. Загрузить протокол выделения (PF Express) на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express» и перейти к выделению.

3.2. Выделение образцов на предмете носителя

Подготовка образца

Тип образца	Максимальное количество
Кровь (на картах или на тканевом носителе)	до 25 мм ²
Физиологические жидкости (слюна, сперма) на тканевом носителе	до 25 мм ²
Клетки на клейкой ленте	до 2 см ²

Вырезать часть носителя (карта, ткань) с биологическим образцом и поместить образец в колонку, вставленную в пробирку для колонки.

Предварительная подготовка

Если набор хранился в холодильнике перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течении 30 минут. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50-60°C до полного растворения осадка.

Проведение лизиса

1. Нагреть термошейкер или термостат до 75°C.
2. Вставить колонку в пробирку для колонки.
3. Поместить образец в колонку.

4. Добавить к образцу 400 мкл *Лизирующего раствора*.
5. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки, встряхнуть на вортексе в течении 5-10 секунд, центрифугировать для сброса капель. Поместить пробирки в термошейкер и инкубировать 15 мин при 75°C (900 об/мин). При отсутствии термошейкера инкубацию можно провести в течении 15 мин в термостате при 75°C, встряхивая пробирки на вортексе и кратко центрифугируя каждые 2-3 мин.
6. Установить картриджи (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



7. После проведения лизиса центрифугировать пробирки для колонок с колонками 2 минуты при 10-15 тыс. для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
8. Осторожно извлечь колонку из пробирки для колонки.
9. Добавить в пробирку 100 мкл *Лизирующего раствора*
10. Установить пробирки для лизата (с перенесенным образцом), наконечники, пробирки для сбора элюата (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



11. Загрузить протокол выделения на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express» и перейти к выделению.

3.3. Выделение из навески ткани

Подготовка образца

Тип образца	Максимальное количество
Навеска ткани	20 мг

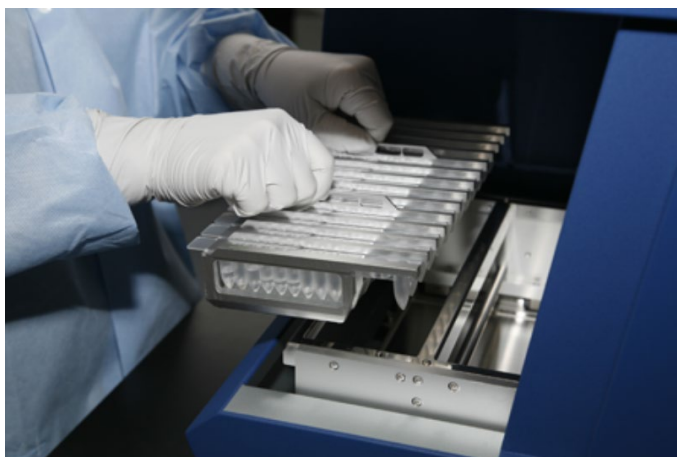
Гомогенизировать навеску исследуемой ткани и поместить образец в спин-баскет, вставленный в пробирку для проб.

Предварительная подготовка

Если набор хранился в холодильнике перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течении 30 минут. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50-60°C до полного растворения осадка.

Проведение лизиса

1. Нагреть термошейкер или термостат до 75°C.
2. Вставить колонку в пробирку для колонки.
3. Поместить образец в колонку.
4. Добавить к образцу 400 мкл *Лизирующего раствора*.
5. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки, встряхнуть на вортексе в течении 5-10 секунд, центрифугировать для сброса капель. Поместить пробирки в термошейкер и инкубировать 15 мин при 75°C (900 об/мин). При отсутствии термошейкера инкубацию можно провести в течении 15 мин в термостате при 75°C, встряхивая пробирки на вортексе и кратко центрифугируя каждые 2-3 мин.
6. Установить картриджи (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



7. После проведения лизиса центрифугировать пробирки для колонок с колонками 2 минуты при 10-15 тыс. для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
8. Осторожно извлечь колонку из пробирки для колонки.
9. Добавить в пробирку 100 мкл *Лизирующего раствора*
10. Установить пробирки для лизата (с перенесенным образцом), наконечники, пробирки для сбора элюата (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



11. Загрузить протокол выделения на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express» и перейти к выделению.

3.4. Выделение из буккальных клеток на аппликаторах

Подготовка образца

Тип образца	Максимальное количество
Буккальный эпителий, мазки на специализированных аппликаторах/ватных палочках	не более 1 аппликатора / ватной палочки

При использовании ватных палочек отрезать ватную часть поместить образец в спин-баскет, вставленный в пробирку для проб.

Предварительная подготовка

Если набор хранился в холодильнике перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течении 30 минут. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50-60°C до полного растворения осадка.

Проведение лизиса

1. Нагреть термошейкер или термостат до 75°C.
2. Вставить колонку в пробирку для колонки.
3. Поместить образец в колонку.

4. Добавить к образцу 400 мкл *Лизирующего раствора*.
5. Закрывать колонку крышкой пробирки для колонки, встряхнуть на вортексе в течении 5-10 секунд, центрифугировать для сброса капель. Поместить пробирки в термошейкер и инкубировать 15 мин при 75°C (900 об/мин). При отсутствии термошейкера инкубацию можно провести в течении 15 мин в термостате при 75°C, встряхивая пробирки на вортексе и кратко центрифугируя каждые 2-3 мин.
6. Установить картриджи (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



7. После проведения лизиса центрифугировать пробирки для колонок с колонками 2 минуты при 10-15 тыс. для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
8. Осторожно извлечь колонку из пробирки для колонки.
9. Добавить в пробирку 100 мкл *Лизирующего раствора*
10. Установить пробирки для лизата (с перенесенным образцом), наконечники, пробирки для сбора элюата (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



11. Загрузить протокол выделения на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express» и перейти к выделению.

3.5. Выделение ДНК из волос

Подготовка образца

Исследуемые образцы волос промыть бидистиллированной водой и высушить. Отрезать фрагмент стержня волоса с волосяной луковицей длиной 3-5 мм.

Выделение ДНК может быть также проведено из образцов волос, не подвергнутых предварительной промывке. Такой подход может повысить суммарный выход экстрагированной ДНК. Однако, необходимо иметь в виду, что наложения, присутствующие на стержне волоса могут являться источником контаминации.

Предварительная подготовка

Если набор хранился в холодильнике перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течении 30 минут. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50-60°C до полного растворения осадка.

Проведение лизиса

1. Нагреть термошейкер или термостат до 75°C.
2. Вставить колонку в пробирку для колонки.
3. Поместить образец в колонку.
4. Добавить к образцу 400 мкл *Лизирующего раствора*.
5. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки, встряхнуть на вортексе в течении 5-10 секунд, центрифугировать для сброса капель. Поместить пробирки в термошейкер и инкубировать 15 мин при 75°C (900 об/мин). При отсутствии термошейкера инкубацию можно провести в течении 15 мин в термостате при 75°C, встряхивая пробирки на вортексе и кратко центрифугируя каждые 2-3 мин.
6. Установить картриджи (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



7. После проведения лизиса центрифугировать пробирки для колонок с колонками 2 минуты при 10-15 тыс. для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
8. Осторожно извлечь колонку из пробирки для колонки.
9. Добавить в пробирку 100 мкл *Лизирующего раствора*
10. Установить пробирки для лизата (с перенесенным образцом), наконечники, пробирки для сбора элюата (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



11. Загрузить протокол выделения на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express» и перейти к выделению.

3.6. Выделение ДНК из ногтей

Подготовка образца

Исследуемые образцы ногтевых пластин очистить от подногтевого содержимого. Ногтевые пластины необходимо промыть бидистиллированной водой и высушить. Высушенные образцы, длиной не более 3-5 мм., поместить в микроцентрифужную пробирку.

ПРИМЕЧАНИЕ! Выделение ДНК из биологического материала, присутствующего в подногтевом содержимом может быть проведено отдельно.

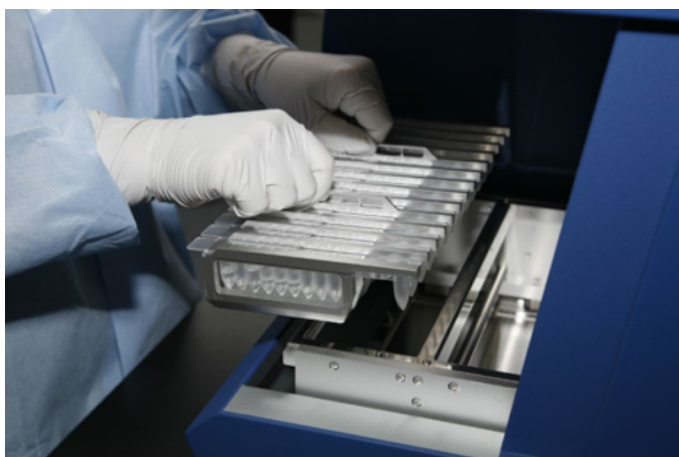
Предварительная подготовка

Если набор хранился в холодильнике перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18-25°C) в течении 30 минут. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50-60°C до полного растворения осадка.

Проведение лизиса

1. Нагреть термощейкер или термостат до 75°C.
2. Вставить колонку в пробирку для колонки.
3. Поместить образец в колонку.
4. Добавить к образцу 400 мкл *Лизирующего раствора*.

5. Закрывать колонку крышкой пробирки для колонки, встряхнуть на вортексе в течении 5-10 секунд, центрифугировать для сброса капель. Поместить пробирки в термошейкер и инкубировать 15 мин при 75°C (900 об/мин). При отсутствии термошейкера инкубацию можно провести в течении 15 мин в термостате при 75°C, встряхивая пробирки на вортексе и кратко центрифугируя каждые 2-3 мин.
6. Установить картриджи (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



7. После проведения лизиса центрифугировать пробирки для колонок с колонками 2 минуты при 10-15 тыс. для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
8. Осторожно извлечь колонку из пробирки для колонки.
9. Добавить в пробирку 100 мкл *Лизирующего раствора*
10. Установить пробирки для лизата (с перенесенным образцом), наконечники, пробирки для сбора элюата (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



11. Загрузить протокол выделения на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express» и перейти к выделению.

3.7. Выделение ДНК из жевательной резинки, сигаретного окурка

Подготовка образца

Жевательная резинка: растяните жевательную резинку в виде тонкого кружка на чистой чашке Петри. Закройте чашку и заморозьте её на -80°C в течении как минимум 2-х часов. Достаньте чашку Петри и разрежьте жевательную резинку на 8 частей. Используйте только один кусочек для выделения ДНК.

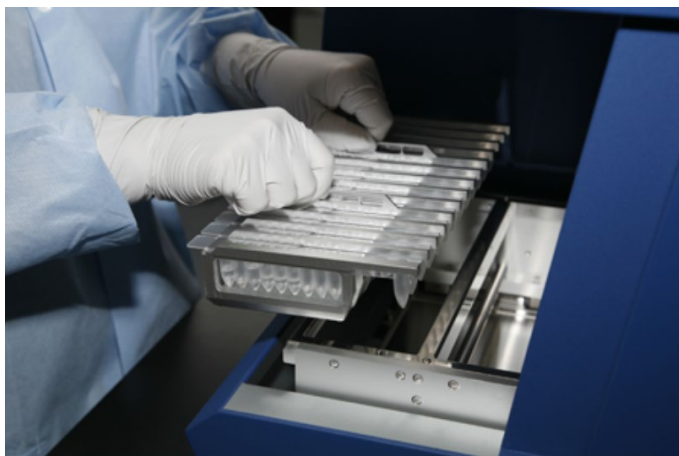
Сигаретный окурочек: необходимо использовать только обёрточную бумагу, покрывающую сигаретный фильтр. Отрежьте кусочек размером 5 мм и разрежьте его на 2-3 более мелких кусочков. Постарайтесь минимизировать количество волокон сигаретного фильтра, попадающего в образец.

Предварительная подготовка

Если набор хранился в холодильнике перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре ($18-25^{\circ}\text{C}$) в течении 30 минут. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре $50-60^{\circ}\text{C}$ до полного растворения осадка.

Проведение лизиса

1. Нагреть термошейкер или термостат до 75°C .
2. Вставить колонку в пробирку для колонки.
3. Поместить образец в колонку.
4. Добавить к образцу 400 мкл *Лизирующего раствора*.
5. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки, встряхнуть на вортексе в течении 5-10 секунд, центрифугировать для сброса капель. Поместить пробирки в термошейкер и инкубировать 15 мин при 75°C (900 об/мин). При отсутствии термошейкера инкубацию можно провести в течении 15 мин в термостате при 75°C , встряхивая пробирки на вортексе и кратко центрифугируя каждые 2-3 мин.
6. Установить картриджи, наконечники, пробирки для сбора элюата (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



7. После проведения лизиса центрифугировать пробирки для колонок с колонками 2 минуты при 10-15 тыс. для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.

8. Осторожно извлечь колонку из пробирки для колонки.
9. Добавить в пробирку 100 мкл *Лизирующего раствора*
10. Установить пробирки для лизата (с перенесенным образцом), наконечники, пробирки для сбора элюата (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



11. Загрузить протокол выделения на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express» и перейти к выделению.

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