

«М-Сорб-Кость-Экспресс»

**Набор реагентов для экстракции ДНК из костного порошка 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.	ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК.....	5

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-Кость-Экспресс» предназначен для выделения препаратов ДНК из костного порошка, полученного из образца кости или зуба.

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-Кость-Экспресс» не требует постановки калибровочных образцов.

2.1. Состав набора

№	Название	Описание	Кол- во
1.	Декальцинирующий раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	16 мл
2.	Лизирующий компонент 2	Бесцветная прозрачная жидкость	0.8 мл
3.	Протеиназа К	Белый порошок	12 мг
4.	Буфер для протеиназы К	Бесцветная прозрачная жидкость	1,2 мл
5.	Картриджи	Пластиковый контейнер с отсеками, содержащими реагенты для выделения	52 шт
6.	Наконечники	Наконечники с фильтром в футляре для автоматической станции выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»	52 шт
7.	Пробирки для декальцинации	Пробирки для проведения декальцинации образцов (1,5 мл.)	52 шт
8.	Пробирки для лизата	Пробирки без крышек для загрузки в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»	52 шт
9.	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, в темноте

После добавления буфера Протеиназу К хранить при температуре от -25 до -16°C

Транспортирование – при температуре +4 до +25°C, в темноте.

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. ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК

Подготовка образца кости

Исследуемые образцы костной ткани очистить от внешних наслоений и фрагментов мягких тканей.

Очищенные фрагменты костной ткани необходимо тщательно промыть бидистиллированной водой. Рекомендуется провести деконтаминацию поверхности костных фрагментов ультрафиолетовым излучением или обработкой раствором перекиси водорода. Тщательно высушить полученный костный фрагмент и гомогенизировать до состояния костного порошка.

Рекомендуется выбирать способ гомогенизации костных фрагментов, не приводящий к нагреву исследуемого материала выше 50°C.

Для последующего выделения ДНК использовать навеску костного порошка от 50 до 100 мг.

Подготовка образца зуба

Исследуемые образцы зубов очистить от внешних наслоений и тщательно промыть би дистиллированной водой. Рекомендуется провести де контаминацию поверхности зубов ультрафиолетовым излучением или обработкой раствором перекиси водорода. Тщательно высушить при комнатной температуре.

Наибольшее количество ДНК может быть получено из содержимого зубного канала. По возможности рекомендуется вскрыть зубные каналы использовать для выделения ДНК фрагменты пульпы. В случае, если пульпа не может быть отделена от стенок зубных каналов, необходимо измельчить зуб до мелких фрагментов радиусом не более 1 мм. Для последующего выделения ДНК использовать навеску костного порошка от 50 до 100 мг.

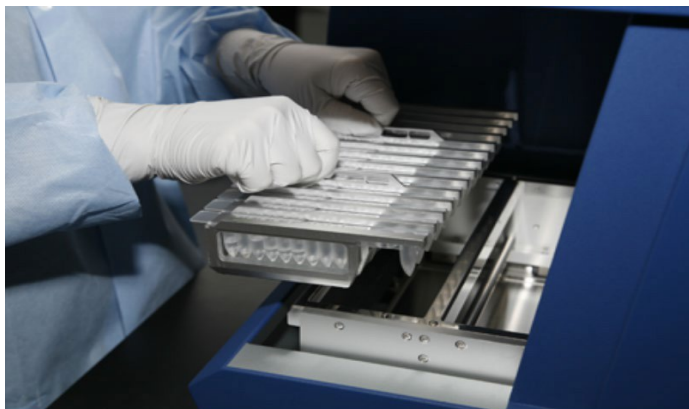
ПРИМЕЧАНИЕ! Для экстракции ДНК рекомендуется отобрать измельченные фрагменты, содержащие стенки зубного канала с пульпой.

Проведение лизиса

1. При первом использовании добавить в пробирку с сухой протеиназой К 600 мкл буфера для протеиназы К. Закрыть пробирку крышкой, перемешать на вортексе до растворения протеиназы К, центрифугировать для сброса капель.
2. Закрыть пробирку крышкой, перемешать на вортексе до растворения протеиназы К, центрифугировать для сброса капель.
3. Нагреть термошейкер или термостат до 56°C.
4. Маркировать необходимое количество *Пробирок для декальцинации*. Взвесить в них по 50-100 мг костного порошка или фрагментов зуба. Кратковременно центрифугировать пробирки для сброса костного порошка на дно.
5. Приготовить рабочий раствор. Для этого смешать 300 мкл *Декальцинирующего раствора*, 15 мкл *Лизирующего компонента 2* и 20 мкл *Протеиназы К*. 335 мкл рабочего раствора добавить к образцу.

ПРИМЕЧАНИЕ! Для удобства можно заранее подготовить рабочий раствор для лизиса (300 мкл Декальцинирующего раствора, 15 мкл Лизирующего компонента 2 и 20 мкл Протеиназы К (n+1), где n – количество проб), затем добавлять по 335 мкл полученной смеси в каждую пробирку.

6. Закрывать пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течении 5-10 сек, открутить на центрифуге для сброса капель.
7. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать 2-4 часа при 56°C 1100 об/мин.
8. Пробирку центрифугировать 3 мин при 12000-16000 об/мин для осаждения не растворившегося осадка.
9. Установить картриджи (согласно количеству образцов) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



10. Осторожно, не забирая осадок, перенести супернатант из пробирки для декальцинации в пробирку для лизата (пробирка без крышки)
11. Установить (согласно количеству образцов) наконечники, пробирки для сбора элюата и пробирки для лизата (с перенесенным образцом) в держатель и поместить его в автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот «AutoMate Express»



10. Загрузить протокол выделения (PF Express BTA) 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