

«Pure Blood DNA_automat»

**Набор реагентов для выделения ДНК из цельной крови человека на автоматической
станции KingFisher FLEX**

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. ВАРИАНТЫ ИСПОЛНЕНИЯ	4
2.1.1. Состав набора EX-502 в флаконах.....	4
2.1.2. Состав набора EX-502_A96 в 96 глубоколоночных планшетах	4
2.2. Количество анализируемых проб	4
2.3. Условия хранения и транспортирования, срок годности	5
2.4. Дополнительное оборудование и материалы, не входящие в состав набора	5
3. ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК.....	6
3.1. Предварительная подготовка для EX-502	6
3.2. Предварительная подготовка для EX-502-A96	6
3.1.2 Протокол выделения ДНК для станции KingFisher FLEX.....	6

1. ОПИСАНИЕ НАБОРА И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Описание набора

Комплект реагентов предназначен для автоматического выделения ДНК человека на станции KingFisher FLEX. 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 **5** до **120 нг/мкл** при элюции в 150 мкл.

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. ВАРИАНТЫ ИСПОЛНЕНИЯ

2.1.1. EX-502 – в флаконах.

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

2.1.2. EX-502-A96 – в 96-глубоколуночных планшетах

Состав набора

№	Название	Описание	Количество
1	Лизис + сорбция	Суспензия магнитных частиц с лизирующим и осаждающим растворами	1 пл.
2	Промывка 1	Промывочный раствор 1, бесцветная прозрачная жидкость	1 пл.
3	Промывка 2	Промывочный раствор 2, бесцветная прозрачная жидкость	1 пл.
4	Промывка 3	Промывочный раствор 3, бесцветная прозрачная жидкость	1 пл.
5	Элюция	Элюирующий раствор, бесцветная прозрачная жидкость	1 пл.
6	Гребенка	Пластиковые наконечники для магнитных стержней	1 шт
7	Протеиназа К	Кристаллический порошок белого цвета	2 шт по 50 мг
8	Буфер для протеиназы К	Бесцветная прозрачная жидкость	2 шт по 1 мл

2.2. Количество анализируемых проб

Набор рассчитан для выполнения 96 экстракций при выделении из 100–200 мкл цельной крови.

2.3. Условия хранения и транспортирования, срок годности

Температура хранения — от +16 до +25 °С.

Транспортирование — от +16 до +25 °С.

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 10 мл, 1000 и 200 мкл.
3. Наконечники с аэрозольным барьером для дозаторов переменного объема на 10 мл, 1000 и 200 мкл.

3. ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК

3.1. Предварительная подготовка для EX-502

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

ВНИМАНИЕ! *Лизирующий раствор* и *Промывочный раствор 1* не должны содержать осадка и должны быть прозрачными.

ВНИМАНИЕ! После растворения в буфере, хранить разведенную протеиназу К при минус 20 °С.

Внести в планшеты реагенты в соответствии с количествами, указанными ниже.

Планшет 1 «Лизис + сорбция»: 270 мкл лизирующего раствора, 20 мкл протеиназы К в буфере, 15 мкл сорбирующего раствора (**тщательно перемешивать сорбирующий раствор после каждой восьмой лунки!**), 250 мкл осаждающего раствора и 100–200 мкл крови.

Планшет 2 «Промывка 1»: 500 мкл промывочного раствора 1.

Планшет 3 «Промывка 2»: 800 мкл промывочного раствора 2.

Планшет 4 «Промывка 3»: 800 мкл промывочного раствора 3.

Планшет 5 «Элюция»: 150 мкл элюирующего раствора.

3.2. Предварительная подготовка для EX-502-A96

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

ВНИМАНИЕ! *Планшет 1 и Планшет 2* не должны содержать хлопьевидного белого осадка и должны быть прозрачным.

ВНИМАНИЕ! После растворения в буфере хранить разведенную протеиназу К при - 20 °С.

Внести в Планшет 1: Лизис + сорбция 20 мкл раствора протеиназы К в буфере, а также 100–200 мкл крови в каждую лунку.

3.3. Протокол выделения ДНК на станции KingFisher FLEX

1 позиция — для установки планшета с наконечниками.

2 позиция — для элюции ДНК.

3 позиция — для третьей промывки комплекса ДНК с магнитными частицами.

4 позиция — для второй промывки комплекса ДНК с магнитными частицами.

5 позиция — для первой промывки комплекса ДНК с магнитными частицами.

6 позиция — для проведения лизиса и сорбции ДНК.

Запуск протокола выделительной станции

Для выделения ДНК на автоматической станции KingFisher FLEX необходимо обратиться к сотрудникам компании СИНТОЛ для установки программы на станцию (PURE-BLOOD-4).

После установки программы в главном меню в разделе *DNA* выбрать протокол **PURE-BLOOD-4** и нажать кнопку *START*.

1. Следуя указаниям на экране прибора, в *позицию №1* установить планшет с наконечниками, нажать кнопку *START*.
2. Установить планшет с *Элюирующим раствором (Элюция)* в позиции №2 станции, предварительно убрать защитный слой, нажать кнопку *START*.
3. Установить планшет с *Промывочным раствором 3 (Промывка 3)* в позиции №3 станции, предварительно убрать защитный слой, нажать кнопку *START*.
4. Установить планшет с *Промывочным раствором 2 (Промывка 2)* в позиции №4 станции, предварительно убрать защитный слой, нажать кнопку *START*.
5. Установить планшет с *Промывочным раствором 1 (Промывка 1)* в позиции №5 станции, предварительно убрать защитный слой, нажать кнопку *START*.
6. Убрать защитный слой с планшета с *Магнитными частицами (Лизис + сорбция)*.
7. В лунки планшета с *Магнитными частицами (Лизис + сорбция)* внести 20 мкл протеиназы К в буфере (см. п. Предварительная подготовка) и необходимое кол-во исследуемого образца (100 – 200 мкл крови).
5. Установить планшет с *Магнитными частицами (Лизис + сорбция)* и исследуемыми образцами в позицию №6 станции, нажать кнопку *START*.

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 ПЦР.