СИНТОЛ

HG-503-50
HG-503-100

Набор реагентов для экстракции ДНК из костного порошка «М-Сорб кость»

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 5
3.1. Декальцинация и лизис 5
3.2. Связывание геномной ДНК с магнитными частицами 6
3.3. Отмывка связанной ДНК 6
3.4. Десорбция 7

1. ОПИСАНИЕ НАБОРА И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Описание набора

Комплект реагентов предназначен для выделения геномной ДНК на магнитном сорбенте. Эффективность выделения ДНК зависит от количества и качества исходного материала.

Протокол набора «М-Сорб кость» может быть использован 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 и дальнейшим анализом геномной ДНК.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Компоненты набора являются одноразовыми.
Набор реагентов «М-Сорб кость» не требует постановки калибровочных образцов.

2.1. Состав набора

№	Название	Описание	Количество	
			HG-503-50	HG-503-100
1.	Декальцинирующий раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	20 мл	40 мл
2.	Лизирующий раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	20 мл	40 мл
3.	Лизирующий компонент 2	Бесцветная прозрачная жидкость	1,5 мл	3 мл
4.	Протеиназа К	Белый порошок	10 мг	20 мг
5.	Буфер для протеиназы К	Бесцветная прозрачная жидкость	1 мл	2 мл
6.	Сорбирующий раствор	Суспензия магнитных частиц	1 мл	2 мл
7.	Осаждающий раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	25 мл	50 мл
8.	Промывочный раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	50 мл	100 мл
9.	Элюирующий раствор	Бесцветная прозрачная жидкость	3,75 мл	7,5 мл

2.2. Количество анализируемых проб

Каждый набор для выделения препаратов ДНК рассчитан для выполнения:
HG-503-50 – 50 экстракций,
HG-503-100 – 100 экстракций

2.3. Условия хранения и транспортирования, срок годности

Хранить в темноте.
Температура хранения – от +4 до +25°С, разведенная протеиназа К от -18 до -20°С.
Транспортирование – от +4 до +25°С
Срок годности набора – 14 месяцев

ВАЖНО! Пробирку с магнитными частицами не замораживать.

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

1. Термошейкер или Термостат;
2. Высокоскоростная центрифуга;
3. Микроцентрифуга-вортекс;
4. Микроцентрифужные пробирки, не содержащие ДНКазы и РНКазы (1,5 и 2,0 мл);
5. Магнитный штатив для пробирок;
6. Набор пипеток переменного объема на 1000, 200, 20 и 10 мкл.;
7. Наконечники с аэрозольным барьером для дозатора переменного объема на 1000, 200, 20 и 10 мкл.

3. ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ

Подготовка образца кости

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

Очищенные фрагменты костной ткани необходимо тщательно промыть би дистиллированной водой. Рекомендуется провести де контаминацию 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°С.

Для последующего выделения ДНК использовать навеску костного порошка от 50 до100 мг.

ПРИМЕЧАНИЕ! Выделение ДНК из мягких тканей, удаленных с поверхности костных фрагментов может быть проведено с использованием набора «М-сорб» (кат. № HG-501)

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 1мм. Для последующего выделения ДНК использовать навеску костного порошка от 50 до100 мг.

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

3.1. Декальцинация и лизис

1. При первом использовании добавить в пробирку с сухой протеиназой К 500 мкл буфера для протеиназы К.
2. Закрыть пробирку крышкой, перемешать на вортексе до растворения протеиназы К, центрифугировать для сброса капель.
3. Нагреть термошейкер до 56°С.
4. Маркировать необходимое количество круглодонных пробирок на 2 мл. 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 400 мкл *Декальценирующего раствора,* 15 мкл *Лизирующего компонента 2* и 20 мкл *Протеиназы К*. 430 мкл рабочего раствора добавить к образцу.

ПРИМЕЧАНИЕ! Для удобства можно заранее подготовить рабочий раствор для лизиса (400 мкл *Декальценирующего раствора, 15 мкл Лизирующего компонента 2* и 20 мкл

*Протеиназы К (*n+1), где n – количество проб), затем добавлять по 430 мкл полученной смеси в каждую пробирку.

6. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течении 5-10 сек, центрифугировать для сброса капель.
7. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать 2-4 часа при 56°С 1100 об/мин.
8. Пробирку центрифугировать 3 мин при 12000-16000 об/мин для осаждения не растворившегося осадка.
9. Перенести супернатант в чистую микроцентрифужную пробирку соответственно маркировке.
10. Добавить 400 мкл *Лизирующего раствора.*

3.2. Связывание геномной ДНК с магнитными частицами

Сорбирующий раствор тщательно перемешать (чтобы не осталось осадка на дне флакона)

ПРИМЕЧАНИЕ! При работе с большим количеством образцов сорбирующий компонент необходимо встряхивать каждые 5 минут, в течении всего времени работы с ним.

1. В пробирку с лизированным образцом добавить 20 мкл *Сорбирующего раствора.*
2. Добавить 400 мкл *Осаждающего раствора*. Тщательно перемешать содержимое пробирки, до равномерного распределения сорбента.
3. Поместить пробирку на 10 мин в шейкер (900 об/мин) при комнатной температуре. В отсутствии шейкера возможно оставить пробирку с образцом при комнатной температуре на 10 мин, перемешивая и кратко центрифугируя каждые 2-3 мин.
1. Центрифугировать пробирку на для сброса капель, затем установить в магнитный штатив на 1-2 мин. Максимально удалить супернатант.

3.3. Отмывка связанной ДНК

1. Добавить в пробирку 500 мкл *Промывочного раствора.* Перемешать содержимое на вортексе до равномерного распределения сорбента.
2. Центрифугировать пробирку с образцом в течение 30 сек для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1-2 мин. Удалить надосадочную жидкость.
3. Повторно добавить в пробирку 500 мкл *Промывочного раствора.* Перемешать содержимое на вортексе до равномерного распределения сорбента.
4. Центрифугировать пробирку с образцом в течение 30 сек для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1-2 мин. Максимально удалить супернатант.

ВАЖНО! Удаляя супернатант, старайтесь не затрагивать осадок с магнитными частицами.

5. Инкубировать пробирки с осадком сорбента в термостате 5 мин при 55°С с открытыми крышками.

ВАЖНО! Не допускать пересыхания осадка сорбента.

3.4. Десорбция

1. Нагреть термошейкер или термостат до 70°С.
2. Добавить в пробирку с образцом от 30 до 100 мкл *Элюирующего раствора.* Перемешать содержимое на вортексе до равномерного распределения сорбента.
3. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать в течении 10 мин при температуре 70°С (900 об/мин). При отсутствии термошейкера, поместить пробирку с образцом в термостат и инкубировать в течении 10 мин при температуре 70°С, перемешивая и кратко центрифугируя каждые 2-3 мин.
4. Центрифугировать пробирки в течение 30 сек. для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1-2 мин.
5. 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 ингибирования реакции ПЦР.

ПРИМЕЧАНИЕ! Раствор ДНК может храниться при температуре от 2 до 8°С в течение суток и при температуре не выше минус 16°С в течение года.

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