

Краткая инструкция

Полное наименование набора

Набор реагентов DNA-Mag Isolation Kit (A) для выделения ДНК из различных тканей животного происхождения

(далее – набор)

1. Назначение набора

Набор предназначен для выделения ДНК из животных тканей различного происхождения. В набор включены все необходимые реагенты для выделения ДНК.

2. Область применения

Набор предназначен для профессионального применения специалистами, имеющими соответствующую квалификацию научно-исследовательской деятельности в области биологии, биологической систематики, криминалистики, судебно-биологической экспертизы в испытательных лабораториях надзорных ведомств, а также прочих организаций.

3. Характеристика набора

3.1. Компоненты набора, состав и количество

1	Лизирующий буфер LB	10	мл	1 флакон
2	Связывающий буфер BB	5	мл	1 флакон
3	Промывочный буфер W1, концентрат	9,5	мл	1 флакон
4	Промывочный буфер W2, концентрат	5	мл	1 флакон
5	Протеиназа К	1000	мкл	1 пробирка
6	Элюирующий буфер EB	7,5	мл	1 флакон

3.2. Количество анализируемых проб

Набор рассчитан на 50 выделений ДНК.

3.3. Условия хранения и транспортирования, срок годности

Компоненты набора пригодны к использованию в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. Буферы набора допускается хранить при температуре от +2°C до +25°C. В случае образования осадка при минимальных температурах хранения, растворы следует нагреть до комнатной температуры и перемешать до полного растворения осадка. После получения набора реагентов отдельные компоненты рекомендуется хранить при температуре, указанной на соответствующей этикетке. Для протеиназы К при длительном хранении (более 1 месяца) рекомендовано соблюдение специального температурного режима - 40 °C – - 18 °C.

4. Подготовка к использованию

Перед использованием все буферы набора необходимо перемешать (взболтать) и довести до комнатной температуры. Протеиназу К можно использовать сразу после того, как достали из морозильника.

Связывающий буфер содержит магнитные частицы, которые при длительном хранении оседают на дно флакона. Непосредственно перед применением суспензию частиц необходимо тщательно перемешать (взболтать) до однородного состояния.

5. Необходимые материалы и оборудование

- микроцентрифужные пробирки объемом 1,5-2 мл;
- магнитный штатив для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл;
- штатив для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл;
- автоматические дозаторы переменного объема на 2-20 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл и соответствующие одноразовые наконечники с фильтром;
- вортекс;
- твердотельный термостат с возможностью поддержания температурного режима в диапазоне 55-65 °С для пробирок объемом 1,5-2 мл;
- скоростная микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5-2 мл до 14 тыс. об/мин.

6. Выделение ДНК

6.1. Подготовка образца к лизису. Лизис.

6.1.1. В случае если ткань была предварительно фиксирована в этаноле, необходимо удалить этанол из образца и подсушить образец перед постановкой лизиса. Рекомендуемое количество твердого материала составляет не более 25 мг.

6.1.2. В случае использования в качестве исходного образца для выделения ДНК суспензии клеток в жидкости рекомендуется провести предварительное центрифугирование жидкости при рекомендуемых параметрах (в зависимости от состава клеток и состояния материала) перед внесением образца на лизис.

6.1.3. Объем вносимого жидкого материала не должен превышать 100 мкл.

6.1.4. Добавьте к образцу 20 мкл Протеиназы К.

6.1.5. Добавьте к образцу 180 мкл Лизирующего буфера LB.

6.1.6. Закройте пробирку, кратко перемешайте содержимое на вортексе, после чего сбросьте капли со стенок и под крышкой пробирки.

6.1.7. Поместите пробирку с лизируемым образцом в термостат на 60 °С. Время инкубации при заданной температуре 1-16 часов (в зависимости состояния образца и количества лизируемой ткани). Для ускорения процесса лизиса рекомендуется в течение первых часов каждые 20-30 минут встряхивать пробирку.

6.2. Подготовка промывочных буферов W1 и W2

Добавьте в флакон с промывочным буфером W1 и W2 соответствующее количество 96% этилового спирта (указано на этикетке флакона), после чего поставьте отметку маркером на этикетке, что спирт добавлен. Закройте флакон и перемешайте содержимое.

6.3. Экстракция ДНК

6.3.1. Перемешайте пробирки с лизатом на вортексе. Перед открытием пробирки проследите, чтобы содержимое не оказалось на внутренней стороне крышки пробирки. Для этого сбросьте капли на дно пробирки кратким откручиванием на вортексе.

6.3.2. В случае полного тотального лизиса вносите связывающий буфер с магнитными частицами непосредственно в пробирку с лизатом. Если после лизиса в растворе остаются неразлизированные фрагменты образца, рекомендуется провести центрифугирование пробирки в течение 5 минут при 14,000 об/мин, после чего перенести всю жидкую фракцию, не затрагивая осадок, в новую пробирку.

6.3.3. Откройте пробирку, внесите 100 мкл связывающего буфера с магнитными частицами. Закройте крышку. Повторно перемешайте содержимое. Инкубируйте смесь 5-30 минут (в зависимости от ожидаемого количества выделяемой ДНК) при комнатной температуре с периодическим перемешиванием пробирок, либо используйте ротатор для пробирок с непрерывным перемешиванием.

6.3.4. Поместите пробирку на магнитный штатив, подождите 3 минуты до полного осаждения частиц на стенке пробирки.

6.3.5. Полностью удалите жидкость, добавьте 500 мкл промывочного раствора W1. Закройте пробирку и перемешайте содержимое пробирки ручным встряхиванием или на вортексе. Сбросьте капли на дно пробирки кратким откручиванием на вортексе.

6.3.6. Поместите пробирку на магнитный штатив, подождите 30 секунд до полного осаждения частиц на стенке пробирок. Полностью удалите жидкость и повторите промывку с промывочным раствором W2 аналогично п. 6.3.5.

6.3.7. Удалите всю жидкость со дна пробирки.

6.3.8. Оставьте пробирку с открытой крышкой на 1 минуту, чтобы подсушить осадок.

6.3.9. Добавьте 100-150 мкл элюирующего буфера (EB), проинкубируйте 3–5 минут с перемешиванием. Для ускорения процесса и более полной элюции рекомендуется провести инкубацию магнитных частиц в EB при 50 °C с периодическим встряхиванием на вортексе.

6.3.10. Сбросьте капли на дно пробирки кратким откручиванием на вортексе. Разместите пробирку на магнитном штативе. Подождите 2 минуты и, удерживая частицы на стенке пробирки, соберите ДНК-содержащий буфер и перенесите в новую пробирку.

6.3.11. Препарат ДНК готов.

7 Информация о фирме-производителе.

ООО “Синтол”: www.syntol.ru

Техническая поддержка

Информацию о наших продуктах и услугах Вы можете найти на сайте ООО “Синтол”: www.syntol.ru

Контакты: 127550, Москва, Тимирязевская 42,

Компания СИНТОЛ

Тел.:

+7 (495) 984-69-93 многоканальный

+7 (499) 977-74-55

+7 (495) 506-79-97

E-mail:

syntol@syntol.ru

info@syntol.ru

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