

Регистрационное удостоверение МЗ СР ФП
 № ФСР 2010/08696

ПРОБА-ГС

Комплект реагентов для выделения ДНК

Предназначен для работы с мокротой, сывороткой и плазмой крови, слюной, молочной сывороткой, измельченными тканями, урогенитальными мазками, а также материалом, в котором присутствует значительное количество ингибирующих примесей.

Метод основан на использовании для лизиса клеток сильного хаотропного агента – гуанидина тиоцианата (GuSCN), и последующей сорбции ДНК на носителе (стеклянные бусы, диатомовая земля, стеклянное «молоко» и т.д.). После отмывок в пробе остается ДНК, сорбированная на носителе, с которого она легко снимается с помощью элюирующего раствора. Метод удобен, технологичен и пригоден для подготовки образца к амплификации. Однако возможны потери ДНК вследствие необратимой сорбции на носителе, а также в процессе многочисленных отмывок. Особенно большое значение это имеет при работе с небольшими количествами ДНК в образце. Кроме того, даже следовые количества GuSCN могут ингибировать ПЦР. Поэтому при использовании этого метода очень важно тщательное соблюдение технологических нюансов. Следует отметить, что из-за большого количества стадий добавления и удаления растворов при работе с образцом требуется аккуратность, т.к. возможна перекрестная контаминация между пробами образующейся аэрозолью ДНК.

Состав (на 100 образцов)

Реактив	Количество	
• Лизирующий раствор	15 мл	1 флакон
• Сорбент	1,0 мл	2 пробирки
• Промывочный раствор №1	20 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №2	20 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №3	20 мл	1 флакон
• Элюирующий раствор	10 мл	1 флакон

Инструкция по применению

1. Пробирку, содержащую анализируемый материал, центрифугировать в течение 10 мин при 13000 об/мин.
2. Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция).
Внимание! Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо провести пробоподготовку отрицательного контрольного образца («К-»). Для этого в отдельную пластиковую пробирку объемом 1,5 мл внести 50 мкл физиологического раствора стерильного и выполнить п.п.3–20 настоящей инструкции.
3. Для обработки нескольких образцов с учётом «К-» (N), смешать в отдельной пробирке: 150 x (N+1) мкл лизирующего раствора, 20 x (N+1) предварительно ресуспендированного сорбента.
4. Добавить по 170 мкл полученной смеси в каждую пробирку с образцом и встряхнуть пробирку на вортексе в течение 3–5 с.
5. Термостатировать пробирку в течение 20 мин при 50 °С.
6. Центрифугировать пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
7. Удалить надосадочную жидкость.
8. Добавить к осадку 200 мкл промывочного раствора №1 и встряхните пробирку на вортексе в течение 3–5 с.
9. Центрифугировать пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
10. Удалить надосадочную жидкость.
11. Добавить к осадку 200 мкл промывочного раствора №2 и встряхните пробирку на вортексе в течение 3–5 с.
12. Центрифугировать пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
13. Удалить надосадочную жидкость.
14. Добавить к осадку 200 мкл промывочного раствора №3 и встряхните пробирку на вортексе в течение 3–5 с.
15. Центрифугировать пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин.
16. Удалить надосадочную жидкость.
17. Открыть крышку пробирки и термостатировать пробирку в течение 5 мин при 50 °С.
18. Добавить к осадку 100 мкл элюирующего раствора и встряхнуть пробирку на вортексе в течение 5–10 с.
19. Термостатировать пробирку в течение 5 мин при 50 °С.
20. Центрифугировать пробирку в течение 1 мин при 13000 об/мин. Если образец предполагается хранить, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР-амплификации.

Примечание. В лизирующем растворе и в промывочном растворе №1 допускается выпадение осадка; перед началом работы его необходимо растворить нагреванием флакона в течение 15–20 мин при 50 °С.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для выделения ДНК ПРОБА-ГС, следует обращаться в ООО «НПО ДНК-Технология» по адресу: 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, к.6, 11 этаж, Тел./факс +7 (495) 980-45-55, E-mail: help@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru