117587, Москва, Варшавское ш., д.125ж, к.6
Тел./факс +7 (495) 980-45-55
E-mail: help@dna-technology.ru
www.dna-technology.ru

Комплект реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза

Информация о комплекте

Назначение:

Комплект реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза предназначен для определения и анализа продуктов амплификации после проведения ПЦР.

Метод:

Электрофорез продуктов амплификации в агарозном геле с последующей детекцией в ультрафиолетовом свете; качественный анализ.

Особенности комплекта:

Комплект выпускается в двух вариантах комплектации – №1 (сухая детекция, в состав входят реактивы для приготовления гелей); №2 (в состав входят готовые гели).

Количество определений:

комплектация №1 – рассчитана на приготовление десяти 2,3% агарозных гелей размером 8,0 х 5,5 см;
комплектация №2 – включает пять 2,3 % агарозных гелей размером 8,0 х 5,5 см (по 30 лунок каждый).

Состав комплекта

Реактив	Количество	
• Буфер трис-борат для гелей*	1,91 г	1 пакет
• Агароза*	4,6 г	1 пакет
• Этидиум бромид*	200 мкл	1 пробирка
• Агарозный гель (2,3 %)**		5 пластин
• Буфер трис-борат для электрофореза	9,55 г	1 пакет

* – только в комплектации №1
** – только в комплектации №2

Инструкция по применению

1. Организация работы

Организация работы, оборудование и материалы должны соответствовать Методическим указаниям МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

Внимание! Все работы необходимо проводить в одноразовых латексных (резиновых) перчатках и спецодежде.

1.1. Выполнение работ должно осуществляться отдельным персоналом, не задействованным на других этапах проведения анализа.

1.2. Рабочая зона (помещение) обеспечивается необходимым количеством комплектов спецодежды (комбинезон или пижама, медицинский халат, шапочка, одноразовые латексные (резиновые) перчатки и сменная обувь). При работе в помещении детекции продуктов амплификации следует надевать одноразовые бахилы. Использование одежды из другой зоны запрещено. Рекомендуется использование одноразовой одежды.

1.3. Надевание и снятие защитной одежды производят в предбоксах. В каждом из них должен быть отдельный комплект защитной одежды и обуви.

1.4. Ежедневно в конце рабочего дня проводят текущую влажную уборку полов разрешенными к применению дезинфицирующими средствами.

1.5. Рабочая зона должна быть обеспечена промаркированным набором уборочного инвентаря, не допускается использование индивидуального уборочного инвентаря для уборки других помещений лаборатории.

1.6. Рабочая зона должна подвергаться ежедневному обеззараживанию ультрафиолетовым излучением после окончания работы в соответствии с руководством «Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях» Р 3.5.1904-04., М.: 2005.

1.7. Для инактивации ампликонов применяют облучение ультрафиолетом. Для обработки поверхностей столов, оборудования, инструментов применяют 0,2 %-ный раствор ДП-2Т или аналогичные ему растворы, разрешенные к применению для этих целей в установленном порядке.

2. Приготовление гелей (только для комплектации №1)

Примечание. На всех этапах приготовления гелей не допускается попадание пыли и ворса в рабочие растворы, так как это существенно ухудшает условия детекции.

2.1. Выровняйте столик для заливки гелей, установите гребенки параллельно на расстоянии не менее 5 мм от верхней стенки и посередине между нижним краем и верхней гребенкой. Вставьте гребенки в держатели таким образом, чтобы между дном лунок и основанием геля оставался слой агарозы 1–2 мм.

2.2. Содержимое пакета «Буфер трис-борат для гелей» растворите, тщательно перемешивая, в 200 мл дистиллированной воды. Для достижения наилучшего эффекта рекомендуется использовать магнитную мешалку.

2.3. Добавьте в ёмкость с буфером для гелей содержимое пакета «Агароза», прикройте ёмкость пергаментной бумагой.

2.4. Суспензию агарозы в ёмкости доведите до кипения на электроплитке или в микроволновой печи (при мощности микроволновой печи 800 Вт). Продолжайте нагревать при мощности микроволновой печи 300 Вт, периодически помешивая и не допуская кипения, до совершенно прозрачного состояния (обычно 15–20 мин).Полученный гель должен быть прозрачным и не содержать отдельных нерасплавленных частиц.

2.5. Расплав охладите при комнатной температуре до 55–60°С.

Внимание! Не допускается образование поверхностной пленки, расслаивания по плотности, образования пены.

2.6. Добавьте в расплав 200 мкл этидиум бромида с помощью автоматической пипетки-дозатора. Тщательно перемешайте.

2.7. Залейте охлажденный расплав на пластину так, чтобы толщина слоя расплава была не менее 5 мм, а зубцы гребёнок были погружены не менее, чем на 3 мм. Не допускайте образования воздушных пузырьков.

2.8. После полного застывания геля (обычно 30 мин при комнатной температуре 18–25°С) осторожно извлеките гребенки плавным движением вверх, стараясь не повредить образовавшиеся карманы.

Допускается хранение готовых гелей в плотно закрытых емкостях с небольшим количеством буфера для проведения электрофореза в течение 1 мес при температуре 2–8°С.

3. Приготовление буфера для электрофореза

3.1. Содержимое пакета «Буфер трис-борат для электрофореза» перенесите в ёмкость объёмом 1,0 л, добавьте 700 мл дистиллированной воды, перемешайте до полного растворения. Для достижения наилучшего эффекта рекомендуется использовать магнитную мешалку.

3.2. Перенесите раствор в мерный цилиндр на 1,0 л и доведите объём дистиллированной водой до 1000 мл. Готовый буфер перелейте в ёмкость для хранения с плотно закрывающейся крышкой и перемешайте переворачиванием.

Буферный раствор для электрофореза можно хранить при комнатной температуре (18–25°С) в течение 1 недели или при температуре 2–8°С в течение 1 мес.

4. Подготовка и проведение электрофореза

4.1. Заполните камеру для электрофореза раствором буфера и поместите пластину с агарозным гелем в камеру. Раствор буфера должен покрывать пластину с гелем слоем приблизительно 3–5 мм.

4.2. Откройте крышки пробирок с продуктами амплификации и осторожно внесите по 7,0 мкл содержимого каждой пробирки в соответствующую лунку агарозного геля под буферный раствор. Для внесения проб используйте автоматическую пипетку-дозатор со сменными наконечниками. Наконечник можно использовать многократно, промывая его пипетированием в дистиллированнной воде перед добавлением следующей пробы. При работе с продуктами ПЦР из пробирок, запечатанных парафином, возможно использовать автоматические пипетки с поршневыми микронаконечниками.

4.3. Для проведения электрофоретического разделения продуктов амплификации установите крышку камеры для электрофореза и подключите источник постоянного тока. Электрофорез проводится в направлении от катода (–) к аноду (+) в течение 15–20 мин, напряжённость электрического поля 10–20 В/см при ширине камеры 10 см. Напряжение, устанавливаемое в источнике постоянного тока, должно быть приблизительно 200–220 В. Фронт красителя, входящего в состав реакционной смеси, должен пройти не менее 2,0 см.

4.4. После окончания электрофореза отключите источник постоянного тока и снимите крышку с камеры.

5. Регистрация и учёт результатов

5.1. Извлеките пластину с агарозным гелем из камеры для электрофореза, снимите гель с пластины, подцепив его с края, и поместите на стекло трансиллюминатора.

5.2. Наденьте защитную маску или установите защитный экран, включите трансиллюминатор и проанализируйте полученные результаты. Продукт амплификации виден в ультрафиолетовом свете (длина волны 254 нм или 310 нм) в виде светящейся полосы красно-оранжевого цвета.

5.3. Для документирования гель необходимо зарегистрировать с помощью видеосистемы, соединенной с компьютером. Учёт результатов проводится согласно инструкции к комплекту реагентов для ПЦР-амплификации ДНК с последующей детекцией методом гель–электрофореза (формат «Форез»).

Условия хранения и эксплуатации

Комплектацию №1 следует хранить при температуре 2–8°С в тёмном месте в течение всего срока годности.

Комплектацию №2 следует хранить при температуре 2–8°С в течение всего срока годности.

Срок годности комплекта: комплектация №1 – 2 года, комплектация №2 – 6 мес.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза, следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, к.6, тел./факс +7 (495) 980-45-55, e-mail: help@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:
http://www.dna-technology.ru/support/

Номер: 181-1
08.08.11