

Buccal Epithelium DNA – Extraction Kit

Инструкция по применению

Набор реагентов для выделения ДНК из соскобов буккального эпителия

Номер каталога: 32601 Набор для 50 выделений
32602 Набор для 100 выделений

Только для исследовательского применения

Версия: январь 2020г

Хранить при +15...+25°C.\



1. Назначение набора	3
2. Принцип действия набора.....	3
3. Материал для исследования	3
4. Состав набора.....	3
5. Необходимые реактивы и инструменты, не входящие в набор	3
6. Транспортировка и хранение.....	4
7. Ограничения по использованию	4
8. Меры предосторожности	4
9. Подготовка компонентов набора	4
10. Протокол.....	4
11. Схема процесса выделения ДНК.....	6
12. Техническая поддержка	6

1. Назначение набора

Набор предназначен для выделения геномной ДНК из соскобов буккального эпителия. Метод обеспечивает быстрый и высокий выход ДНК. Полученная ДНК может быть использована для ПЦР в режиме реального времени.

2. Принцип действия набора

На первом этапе в специальном растворе клетки крови лизируются, а белки денатурируются. На следующем этапе ДНК сорбируется на колонки, промывается и элюируется.

3. Материал для исследования

В качестве материала для выделения ДНК используется соскоб из буккального эпителия. Соскоб необходимо брать тщательно, чтобы собрать максимальное количество материала. Щеточку с соскобом помещают в 1,5 мл пробирку с коническим дном. Верхнюю часть щеточки необходимо отрезать, чтобы пробирка закрывалась.

4. Состав набора

Набор содержит реактивы достаточные для выделения 50 (кат№ 32601) или 100 (кат№ 32602) образцов ДНК (Таблица 1).

Таблица 1. Состав набора.

Компонент	Кол-во Кат № 32601	Кол-во Кат № 32602
Микроколонки	50 шт	100 шт
Пробирки 2 мл	50 шт	100 шт
Лизис-буфер	20 мл	40 мл
Буфер ВВ1 (концентрат)	10 мл	20 мл
Буфер WB1 (концентрат)	30 мл	60 мкл
Раствор для промывки 2 (концентрат)	15 мл	30 мл
Вода для ПЦР	8 мл	15 мл

5. Необходимые реактивы и инструменты, не входящие в набор

- Одноразовые перчатки;
- Пипетки-дозаторы переменного объема на 2-20, 10-100, 200-1000мкл типа Ленпипет (Россия) и одноразовые наконечники с фильтрами;
- Стерильные микроцентрифужные пробирки на 1,5 и 2 мл с защелкой;

- Микроцентрифуга на 13.000 об/мин;
- Вортекс;
- Шейкер;
- Термостат или водяная баня на +55°C;
- Этиловый спирт;
- Протеиназа К или диспаза;
- РНКаза(опционально).

6. Транспортировка и хранение

Набор поставляется и хранится при комнатной температуре (+15...+25°C). При правильном использовании срок хранения – 12 месяцев.

7. Ограничения по использованию

- Набор предназначен только для исследовательского применения;
- Для получения корректных результатов необходимо строго следовать настоящей инструкции;
- Не использовать по истечении срока хранения.

8. Меры предосторожности

- При работе с химикатами всегда используйте лабораторную одежду, одноразовые перчатки и защитные очки;
- Использованные реагенты утилизировать как химические отходы.

9. Подготовка компонентов набора

- В **Буфер ВВ1** перед *первым* использованием необходимо добавить 10 мл (Кат №32601) или 20 мл (Кат №32602) этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.
- В **Буфер WB1** перед *первым* использованием необходимо добавить 10 мл (Кат №32601) или 20 мл (Кат №32602) этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.
- В **Раствор для промывки 2** перед *первым* использованием необходимо добавить 35 мл (Кат №31601) или 70 мл (Кат №31602) этилового спирта (96-100%) и тщательно перемешать.

10. Протокол

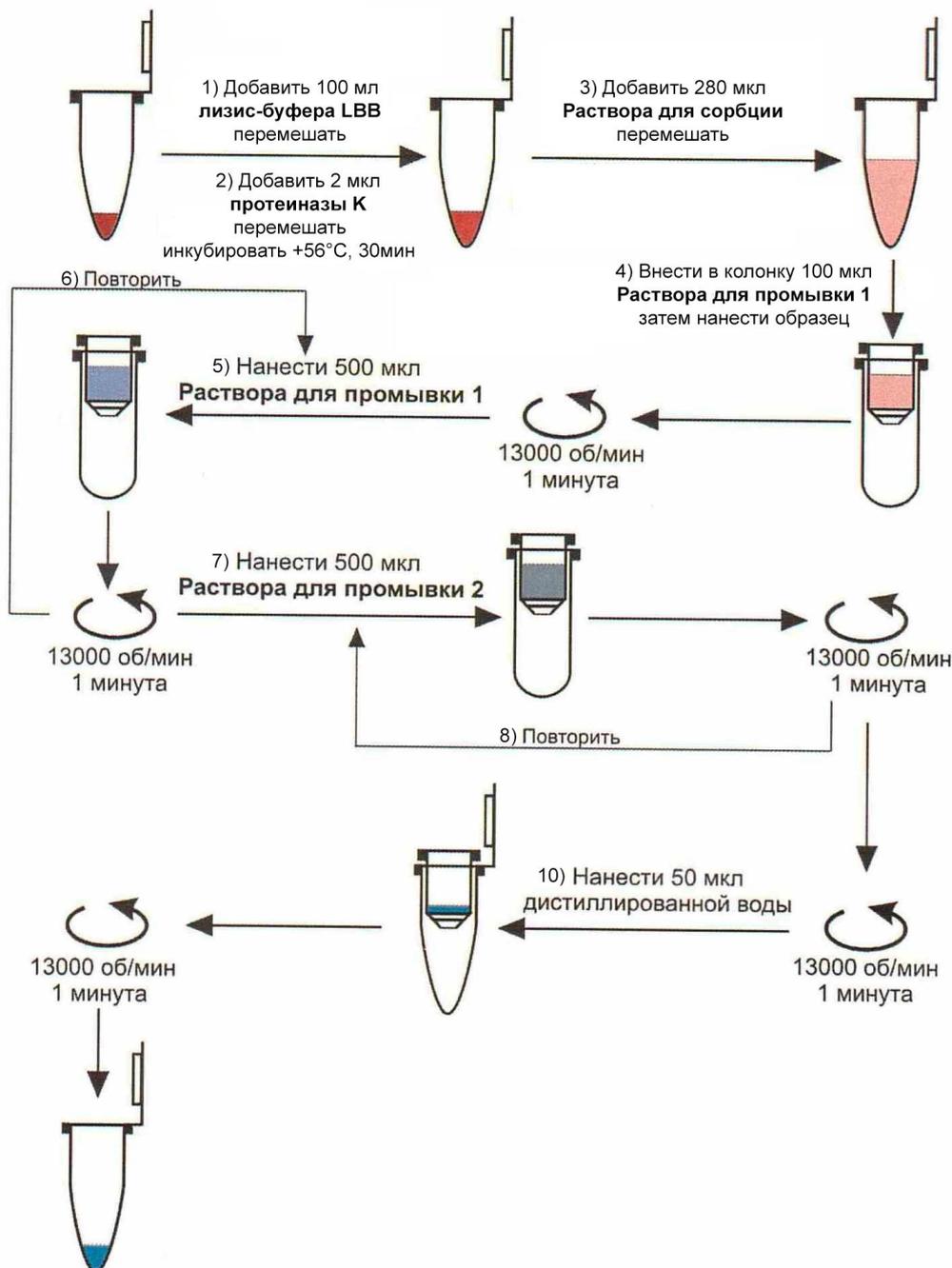
10.1 В пробирку с соскобом добавить 400 мкл лизис-буфера, тщательно перемешать на вортексе. Если необходимо избавиться от РНК в препарате, то следует добавить в раствор РНКазу.

10.2 Добавить 4-8 мкл раствора диспазы или протеиназы К до концентрации 100 мкг/мл и тщательно перемешать.

10.3 Инкубировать при +56°C 30 минут.

- 10.4 Добавить 400 мкл Буфера BB1 и перемешать на вортексе.
- 10.5 Внести в колонку 200 мкл Буфера WB1. Вставить колонку в 2 мл пробирку-приемник. Центрифугировать 1 мин при 6000 об/мин. Удалить фильтрат из 2 мл пробирки-приемника.
- 10.6 Внести в колонку 650 мкл образца. Центрифугировать 1 мин при 6000 об/мин. Удалить фильтрат. Внести в колонку остатки образца. Центрифугировать 1 мин при 6000 об/мин. Удалить фильтрат.
- 10.7 Внести в колонку 300 мкл Буфера WB1. Центрифугировать 1 мин при 6000 об/мин. Удалить фильтрат.
- 10.8 Повторить п. 10.7.
- 10.9 Внести в колонку 500 мкл Раствора для промывки 2. Центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин. Удалить фильтрат.
- 10.10 Повторить п. 10.9
- 10.11. Поместить микроколону в ту же пробирку-приемник и центрифугировать 1 мин при 13000 об/мин для удаления остатков буфера.
- 10.12 Извлечь микроколону и поместить ее в новую пробирку объемом 2 мл. Нанести в центр мембраны 50 мкл воды для ПЦР. Минимальный объем воды, которым можно проводить элюцию – 30 мкл, максимальный – 100 мкл. При элюции 30 мкл воды достигается максимальная концентрация ДНК в образце. При элюции 100 мкл – максимальный выход.
- 10.13 Инкубировать микроколону 1-3 мин при комнатной температуре, затем центрифугировать 1 минуту при 13000 об/мин.
- 10.14. Перенести полученный раствор с очищенной ДНК в новую пробирку объемом 1,5 мл.
- Готовую ДНК хранить при -20°C.

11. Схема процесса выделения ДНК



12. Техническая поддержка

С техническими вопросами обращаться в ООО «БиоЛинк»: 630090, Россия, г. Новосибирск, ул. Николаева, д. 13. Тел.: +7 (383) 209-32-40. E-mail: info@biolinklab.ru