COrDIS Экстракт

FFPE

Набор реагентов для экстракции ДНК из парафиновых блоков

Инструкция пользователя

Оглавление

1. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ 1

1.1 Описание продукта 1

1.2 Компоненты набора и состав 2

1.3 Условия хранения 2

1.4 Сопутствующие материалы 2

1.5 Гарантии качества 3

2. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ ПАРАФИНОВЫХ БЛОКОВ 3

3. ИНФОРМАЦИЯ О ФИРМЕ ПРОИЗВОДИТЕЛЕ 5

1. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ

1.1 Описание продукта

Набор реагентов COrDIS «ЭКСТРАКТ» FFPE предназначен для получения препаратов ДНК из биологического материала человека для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции. Принцип метода основан на протеиназной обработке исследуемого материала. В присутствии хаотропных веществ, входящих в состав лизирующего буфера, ДНК сорбируется на поверхности магнитных частиц, а затем отмывается от потенциальных ингибиторов ПЦР с использованием отмывочных растворов. Финальная элюция нуклеиновых кислот с поверхности магнитных частиц позволяет получить высокоочищенный препарат ДНК, пригодный для проведения полимеразной реакции.

Лизирующий буферный раствор, используемый в составе набора, позволяет добиться высокой эффективности лизиса биологического материала.

Полученные препараты могут быть напрямую использованы для постановки ПЦР с наборами для амплификации STR-маркеров.

1.2 Компоненты набора и состав

1.	Лизирующий буфер	1 флакон (30 мл)
2.	Связывающий буфер	1 флакон (20 мл)
3.	Отмывочный буфер 1	1 флакон (30 мл)
4.	Отмывочный буфер 2	1 флакон (60 мл)
5.	Элюирующий буфер	1 флакон (5 мл)
6.	Магнитные частицы	2 пробирки (2x1 мл)
7.	Протеиназа К	1 пробирка (1 мл)
8.	Реагент для депарафинизации	1 флакон (60 мл)
9.	Раствор ТЕ	1 флакон (50 мл)
10.	Раствор Tris 1M	1 флакон (50 мл)

1.3 Условия хранения

Компоненты набора: Лизирующий буфер, Связывающий буфер, Отмывочный буфер 1, Отмывочный буфер 2, Элюирующий буфер, Реагент для депарафинизации, Раствор ТЕ, Раствор Tris 1M хранить при температуре **+15°C / +25°C.**

Компоненты набора: **Протеиназа К, Магнитные частицы** хранить при температуре **+2°C / +8°C.**

Допускается режим транспортировки при температуре от +15°C до +25°C в течении 14 календарных дней. При более длительной транспортировке набора необходимо разукомплектовать наборы реагентов и обеспечить хранение следующих компонентов наборов: Протеиназа К, Магнитные частицы при температуре от +2°C до +8°C.

Срок годности компонентов набора - 18 месяцев при соблюдении условий хранения.

1.4 Сопутствующие материалы

Необходимые оборудование и материалы, не входящие в состав набора:
Термостат с возможностью нагрева до 56°C.
Магнитный штатив

1.5 Гарантии качества

Качество компонентов набора проверено и контролируется в процессе производства. Каждый выпущенный лот реагентов регулярно проверяется на соответствие заявленным характеристикам в течение 18 месяцев. В случае возникновения вопросов относительно качества набора просим незамедлительно связаться с ООО “ГОРДИЗ”.

2. Выделение ДНК из парафиновых блоков

Протокол валидирован для депарафинизации фрагментов мягких тканей, заключенных в парафин и подготовки образцов к дальнейшей экстракции ДНК реактивами набора COrDIS «ЭКСТРАКТ» для дальнейшей постановки реакций с наборами COrDIS. Использование полученных препаратов ДНК для других целей требует дополнительной валидации.

Протокол экстракции

1. Внести 1–3 среза, содержащих гистологический препарат в пробирку 1.5 мл.
2. Внести 600 мкл реагента для депарафинизации. Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
3. Инкубировать 30 мин при 56°C.
4. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки жидкую часть лизата.
5. Внести 500 мкл 96 % этанола. Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
6. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки жидкую часть лизата.
7. Внести 500 мкл 96 % этанола. Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
8. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки жидкую часть лизата.
9. Внести 500 мкл раствора TE. Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
10. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки жидкую часть лизата.
11. Внести 500 мкл 1 M Tris. Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
12. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки жидкую часть лизата.

13. Добавьте к исследуемому материалу 290 мкл Лизирующего буфера и 10 мкл Протеиназы К. Кратко перемешайте смесь на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
14. Поместите пробирку в термостат. Инкубируйте препарат в течение 1 часа при 56ºС. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал), допускается добавление дополнительного количества раствора Протеиназы К (до 10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56ºС.
15. После завершения процедуры лизиса проведите центрифугирование полученного препарата (5 мин, > 10 000 rcf) для разделения жидкой и твердой части лизата. Не задевая твердого нелизированного осадка, перенесите жидкую часть лизата в чистую пробирку объемом 1.5 мл для продолжения процедуры экстракции.
16. К полученному раствору (жидкая часть лизата) добавьте 20 мкл раствора Магнитных частиц. Перемешайте препарат с частицами на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
17. Добавьте в пробирку с образцом 180 мкл Связывающего буфера. Перемешайте препарат с частицами на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
18. Поместите пробирку с препаратом в магнитный штатив. Инкубируйте препарат в магнитном штативе на столе 5-10 минут (до полного просветления раствора в зависимости от модели магнитного штатива).
19. Не удаляя пробирки из штатива, полностью отберите жидкую часть лизата, не касаясь осадка с магнитными частицами.
20. Добавьте к магнитным частицам 300 мкл Отмывочного буфера 1. Извлеките пробирку из штатива. Перемешайте препарат с частицами на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
21. Поместите пробирку с препаратом в магнитный штатив. Инкубируйте препарат в магнитном штативе на столе 2-3 минуты (до полного просветления раствора).
22. Не удаляя пробирки из штатива, полностью отберите жидкую часть лизата, не касаясь осадка с магнитными частицами.
23. Добавьте 300 мкл Отмывочного буфера 2. Извлеките пробирку из штатива. Перемешайте препарат с частицами на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.

24. Поместите пробирку с препаратом в магнитный штатив. Инкубируйте препарат в магнитном штативе на столе 2-3 минуты (до полного просветления раствора).
25. Не удаляя пробирки из штатива, полностью отберите жидкую часть лизата, не касаясь осадка с магнитными частицами.
26. Повторите операции № 23-25.
27. Не закрывая крышку пробирки, инкубируйте магнитные частицы на столе 10 минут (до полного высыхания капель жидкости на стенках пробирки)
28. Добавьте к магнитным частицам 50 мкл Элюирующего буфера. Перемешайте препарат с частицами на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
29. Инкубируйте препарат в термостате 5 минут при 56ºС. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
30. Поместите пробирку с препаратом в магнитный штатив. Инкубируйте препарат в магнитном штативе на столе 5-10 минут (до полного просветления раствора).
31. Не удаляя пробирку из магнитного штатива, перенесите жидкую часть лизата (очищенный препарат ДНК) в чистую пробирку.
32. Рекомендуется хранить полученный препарат при температуре 4ºС в течение 3-4 недель. Для более длительного хранения препарата ДНК рекомендуется осуществлять хранение при -20ºС

3. ИНФОРМАЦИЯ О ФИРМЕ ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

Производитель: ООО «ГОРДИЗ»
Юридический и почтовый адрес: 143026 г. г. Москва, территория инновационного центра Сколково, ул. Большой Бульвар, д.42, стр. 1, пом.337.
Телефон/факс: (499) 670-40-41
Домашняя страница: www.gordiz.ru
e-mail: gordiz@gordiz.ru