

**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	2
2.	ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ ПАРАФИНОВЫХ БЛОКОВ	3
3.	ИНФОРМАЦИЯ О ФИРМЕ ПРОИЗВОДИТЕЛЕ	5

1. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ

1.1 Описание продукта

Набор реагентов CO_rDIS «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 TE	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 TE, Раствор Tris 1M хранить при температуре +15°C / +25°C

Компоненты набора: **Протеиназа К, Магнитные частицы** хранить при температуре +4°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 CO_rDIS «ЭКСТРАКТ» для дальнейшей постановки реакций с наборами CO_rDIS. 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. Поместите исследуемый биологический материал в пробирку, объемом 1.5 мл. 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 56°C. 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 56°C.

15. После завершения процедуры лизиса проведите центрифугирование полученного препарата (5 мин, > 10 000 gcf) 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. Для более эффективного сбора жидкой части лизата, могут использоваться специализированные корзины для центрифугирования впитывающих материалов – CO_rDIS UniSpin (не поставляется с набором, заказывается отдельно по каталожному номеру US-520)
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 5-10 минут (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 5-10 минут (до полного просветления раствора).

25. Не удаляя пробирки из штатива, полностью отберите жидкую часть лизата, не касаясь осадка с магнитными частицами.
26. Повторите операции № 11-13.
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 56°C. 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 4°C в течение 3-4 недель. Для более длительного хранения препарата ДНК рекомендуется осуществлять хранение при -20°C

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