



Листівка-вкладка

Набір реагентів «Bioscore® ДНК-преп» для виділення ДНК з біологічного матеріалу (50 виділень).
Для *in vitro* діагностики.

Призначення

Набір реагентів «Bioscore® ДНК-преп» призначений для виділення високоочищеної сумарної ДНК з еукаріотичних та прокаріотичних клітин, рослинних та тваринних тканин, клінічного матеріалу протягом години.

Застосування: Набір реагентів застосовується у клінічних діагностичних лабораторіях, науково-дослідних лабораторіях, а також інших установах, які працюють в області *in vitro* діагностики.

Загальна інформація

Набір реагентів для виділення ДНК «Bioscore® ДНК-преп» поєднує в собі метод фенольно-хлороформної екстракції та спиртову преципітацію нуклеїнових кислот. Лізис зразку відбувається в суміші, що містить фенол та гуанідин тіоціонат. Отримана гомогенна суміш після додавання хлороформу розділяється на нижню органічну фазу, інтерфазу та верхню водну фазу. ДНК, що міститься в органічній фазі, висаджується шляхом додавання спирту.

Аналітичні характеристики

Отримана ДНК може бути використана для проведення наступних досліджень: ПЛР, ПЛР у реальному часі, рестрикційному аналізі, саузерн блот аналізі, молекулярному клонуванні.

Увага! Під час проведення процедури виділення ДНК необхідно дотримуватись стандартних заходів безпеки, що попереджають забруднення навколишнього середовища, керуючись при цьому Державними санітарними нормами і правилами.

Склад

Набір реагентів «Bioscore® ДНК-преп» розрахований на 50 виділень. До складу набору входять наступні компоненти:

TRIZol™ LS реагент	– 1 пляшка 40 мл;
Хлороформ	– 1 пляшка 10 мл;
Ізопропіловий спирт	– 1 пляшка 25 мл;
Буфер для елюції А	– 1 пляшка 50 мл;
Буфер для елюції Б	– 1 пляшка 30 мл

Всі компоненти набору зберігаються при температурі від 4 до 25°C.

Необхідне оснащення та реагенти, що не входять у набір

Обладнання:	центрифуга на 12 тис. об./хв. з холодильником; набір автоматичних дозаторів;
Розхідні матеріали:	поліпропіленові мікроцентрифужні пробірки на 1,5 мл;
Реагенти:	75% етанол, дН ₂ О.

Увага! Для використання Набору реагентів лабораторія має відповідати вимогам Державних санітарних норм і правил «Організація роботи лабораторії при дослідженні матеріалу, що містить біологічні патогенні агенти I-IV груп патогенності

молекулярно-генетичними методами», має бути оснащеною відповідним обладнанням та витратними матеріалами та мати акредитацію згідно ДСТУ EN ISO 15189:2015 «Медичні лабораторії. Вимоги до якості та компетентності лабораторій».

Етапи екстракції ДНК:

Увага! Набір реагентів призначений для виділення ДНК з рідких зразків (кров, культури клітин, змиви і т. ін.). Не використовувати набір реагентів для негомогенізованих твердих зразків, оскільки це може призвести до зниження виходу НК.

Лізис зразків

1. Відібрати необхідну кількість одноразових пробірок типу «Еппендорф», включно з негативним контролем виділення, та підписати;
2. Внести в пробірки по 0,25 мл зразків, в пробірку негативного контролю виділення внести 0,25 мл дН₂О;
3. Внести в пробірки TRIzol™ LS реагент із розрахунку 0,75 мл на кожні 0,25 мл зразку. Гомогенізувати зразки за допомогою вортекса або шляхом піпетування;
4. (За необхідності) У випадку високого вмісту жирів у зразках центрифугувати лізат протягом 5 хв. при 12 тис. об./хв. при температурі 4-10°C. Освітлений супернатант перенести у нову пробірку;
5. Інкубувати зразки впродовж 5 хв. при кімнатній температурі;
6. Внести в пробірки хлороформ із розрахунку 0,2 мл на кожні 0,75 мл TRIzol™ LS реагенту та інкубувати впродовж 2-3 хв. при кімнатній температурі;
7. Центрифугувати зразки впродовж 15 хв. при 12 тис. об./хв. при температурі 4°C (розчин має поділитися на нижню фенольно-хлороформну фазу, інтерфазу і верхню водну фазу).
8. Обережно видалити верхню водну фазу разом з інтерфазою (даний етап є критичним для якості ДНК що виділяється);

Осадження ДНК

9. Внести в пробірки ізопропіловий спирт із розрахунку 0,3 мл на кожні 0,75 мл TRIzol™ LS реагенту, що використовувався для лізису;
10. Закрити кришки і перемішати зразки шляхом перевертання пробірок декілька разів;
11. Інкубувати зразки впродовж 2-3 хв. за кімнатної температурі;
12. Центрифугувати зразки впродовж 5 хв. при 2 тис. об./хв. при температурі 4°C;
13. Видалити надосадову рідину;

Відмивка ДНК

14. Розчинити осад ДНК в 1 мл буферу для елюції А;
15. Інкубувати зразки ДНК впродовж 30 хв., час від часу обережно перемішуючи;
16. Центрифугувати зразки впродовж 5 хв. при 2 тис. об./хв. при температурі 4°C;
17. Видалити надосадову рідину за допомогою автоматичного дозатору;
18. Повторити етапи 14-17 ще один раз;
19. Розчинити осад ДНК в 75% етанолі із розрахунку 1,5-2 мл на кожні 0,75 мл TRIzol™ LS реагенту;
20. Інкубувати зразки ДНК впродовж 10-20 хв., час від часу обережно перемішуючи;
21. Центрифугувати зразки впродовж 5 хв. при 2 тис. об./хв. при температурі 4°C;

Листівка	Листівка-вкладка	Редакція №1	01.06.2020 Сторінка 2 з 2
----------	------------------	-------------	------------------------------

22. Обережно видалити надосадову рідину за допомогою автоматичного дозатору, осад ДНК підсушити впродовж 5-10 хв. при кімнатній температурі;

Розчинення ДНК

23. Розчинити осад ДНК в 0,3-0,6 мл буферу для елюції Б шляхом піпетування;

24. Центрифугувати зразки впродовж 10 хв. при 12 тис. об./хв. при температурі 4°C;

25. Перенести надосадову рідину у нові пробірки.

Після завершення процедури екстракції ДНК необхідно перевірити її чистоту за допомогою спектрофотометру шляхом визначення співвідношення довжин хвиль $A_{260/230}$, яке має вкладатися у діапазон 1,8-2,0.

Увага! Допускається зберігання виділених зразків ДНК протягом одного тижня за температури +4-+8°C та до одного року за температури $\leq -18^\circ\text{C}$.

Додаткова інформація

Термін придатності набору реагентів 12 місяців з дати виготовлення за умови належного зберігання всіх компонентів. Умови зберігання при температурі від 4°C до 25°C.

Виробник гарантує придатність набору діагностичного протягом всього терміну придатності при дотриманні умов зберігання, транспортування та використання. У випадку, якщо набір реагентів не відповідає вимогам листівки-вкладки або виникли ускладнення з його використанням, слід негайно припинити використання даної серії та повідомити виробника.

З питаннями та побажаннями щодо роботи Набору реагентів «Bioscore® РНК-преп» звертатися за адресою:

ТОВ «БІОКОР ТЕХНОЛОДЖІ ЛТД»

Юридична адреса: вул. Петра Болбочана, 4-А, м. Київ, Україна, 01133

Адреса виробництва: Харківське шосе, 48, м. Київ, Україна, 02160;

тел.: +38 (044) 490-47-00, e-mail: info@biocor-tech.com, www.biocor-tech.com