



Общество с ограниченной ответственностью

«Биолабмикс»

ИНН 5408278957 КПП 540801001

630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,

ул. Инженерная, дом № 28

Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40

E-mail: sales@biolabmix.ru

Набор Fast Lysis Buffer для экспресс-выделения ДНК из клеточных линий и буккального эпителия

Кат. номер FL-bio100, FL-bio200

Важно!

Мы постоянно совершенствуем протокол работы с реагентом, поэтому просьба использовать протокол, идущий в комплекте с продуктом.

Протокол обновлён 06.12.2023.

Описание

Набор предназначен для экспресс-выделения ДНК из следующих образцов:

1. Клеточные линии человека и животных;
2. Клеточные линии бактерий;
3. Образцы буккального эпителия, слюна.

Принцип действия набора основан на экспресс-лизисе клеток с использованием протеиназы К. Выделенная ДНК может быть использована для проведения ПЦР.

Состав набора

	FL-bio100 100 выделений*	FL-bio200 200 выделений
Буфер для лизиса, LB	4x15 мл	8x15 мл
Протеиназа К	450 мкл	2x450 мкл

*из расчета расчёта 600 мкл на одно выделение из 1.000.000 клеток.

Меры предосторожности

Осторожно! Лизис буфер содержит смесь детергентов, при попадании в глаза может вызывать раздражение. Не токсичен. При попадании в глаза промойте немедленно большим количеством воды и моющего средства (детергента). При необходимости обратитесь за медицинской помощью.

Эксплуатация

Компоненты набора: буфер для лизиса LB и протеиназа К стабильны после вскрытия флаконов в течение не более 12 месяцев или до окончания срока годности при условии достаточной герметизации флаконов.

Внимание! Буфер для лизиса LB содержит консерванты, перед внесением в ПЦР всегда прогревайте лизат.

Условия работы

Температура окружающей среды 15 – 25°C;

Относительная влажность воздуха не более 80 %;

Атмосферное давление 630 – 800 мм. рт. ст.

Оборудование и материалы, не входящие в набор

- Твердотельный термостат, поддерживающий температуру до 95°C;
- Одноканальные дозаторы переменного объема;
- Ротационный перемешиватель (Вортекс);
- Центрифуга для микропробирок на 1.5–2 мл, скорость 10000 rcf;
- Перчатки резиновые;
- Микропробирки;
- Одноразовые наконечники для дозаторов.

Протоколы выделения ДНК. Подготовка и лизис образцов.

Клеточные линии человека/животных. Клеточные линии бактерий.

Таблица 1. Соотношение реагентов для лизиса клеточных линий человека/животных или клеточных линий бактерий.

Количество клеток на лунку	Количество буфера LB	Протеиназа К, 20 мг/мл
До 100.000 шт	100 мкл	0,5 мкл
100.000 – 250.000 шт	150 мкл	1 мкл
250.000 – 500.000 шт	200 мкл	1,5 мкл
500.000 – 1.000.000 шт	400 мкл	2 мкл
Более 1.000.000 шт	600 мкл	4 мкл

1. Разморозить буфер для лизиса LB и протеиназу К. Убедиться, что растворы разморозились равномерно. Перемешать, аккуратно переворачивая флакон или пробирку.
2. Определить количество клеток в лунках планшета. При использовании суспензии клеток, осадить клетки центрифугированием и удалить супернатант. При работе с адгезивными культурами удалить культуральную среду, не задевая клеточный слой.
3. В отдельной пробирке (флаконе) смешать необходимое количество буфера LB и протеиназы К (см. таблицу 1). Инкубировать 1 мин при 15–25 °С. Перемешать смесь на вортексе 10 секунд.
4. Добавить необходимое количество смеси к образцу клеток (см. таблица 1).
5. Перемешать пипетированием, инкубировать 1 мин при 15–25 °С.

Примечание: при работе с адгезивными культурами убедиться, что клетки открепилась от лунки планшета. Если нет, дополнительно инкубировать 5 мин при 15–25 °С.

6. Если образцы клеток находились в лунках планшета, то чистым одноразовым наконечником перемешать содержимое лунок и перенести в чистую микропробирку.
7. Перемешать смесь на вортексе 10 секунд. Сбросить капли коротким центрифугированием.
8. Инкубировать 10 мин при 56°С.
9. После инкубировать 10 мин при 95°С.

Внимание! Перед инкубированием при 95°С, убедитесь, что температура термостата достигла 95°С.

10. При наличии нерастворимых частиц центрифугировать образцы 10000 gcf, 3 мин. Образец готов для подготовки реакционной смеси ПЦР.

- **Образцы буккального эпителия. Слюна.**

1. Разморозить буфер для лизиса LB и протеиназу K. Убедиться, что растворы разморозились равномерно. Перемешать, аккуратно переворачивая флакон или пробирку.
2. В отдельной пробирке смешать 400 мкл буфера для лизиса LB и 2 мкл протеиназы K. Перемешать смесь на вортексе 10 секунд. Сбросить капли коротким центрифугированием.
3. Внести образцы буккального эпителия, в случае внесения образца с зонда хорошо отжать зонд о стенку пробирки. В случае использования слюны отбирать не менее 200 мкл слюны.
4. Перемешать содержимое микропробирок на вортексе 10 секунд. Сбросить капли коротким центрифугированием.
5. Инкубировать 10 мин при 56°C.
6. После инкубировать 10 мин при 95°C.
Внимание! Перед инкубированием при 95°C, убедитесь, что температура термостата достигла 95°C.
7. При наличии нерастворимых частиц центрифугировать образцы 10000 gcf, 3 мин. Образец готов для подготовки реакционной смеси ПЦР.

Анализ выделенной ДНК.

Полученные образцы пригодны для постановки ПЦР.

Примечание: Буфер для лизиса LB содержит смесь детергентов, что в дальнейшем не позволяет использовать данные образцы для анализа образцов с помощью гель-электрофореза или УФ-спектрометрии. Для анализа данными методами необходим провести дополнительную очистку лизата. Это можно сделать с помощью методов осаждения или сорбции на центрифужных колонках или магнитных частицах. В каталоге ООО «Биолабмикс» присутствует Набор для выделения ДНК и РНК из реакционных смесей (кат. № DR-10, DR-50, DR-250, DR-50-micro, DR-250-micro), который можно использовать для данной задачи.

Условия хранения

Набор (буфер для лизиса LB, протеиназу K) хранить при -20 °C. После вскрытия хранить при температуре -20°C в течение не более 12 месяцев или до окончания срока годности. Срок годности см. на упаковке.

Условия транспортировки

Транспортировку набора (буфер для лизиса LB, протеиназу K) производить при температуре от +15 до +25 °C. Допускается транспортирование при температуре не выше +25°C в течение 14 суток.