



Инструкция по применению

GentaPure Cleanup

Магнитные частицы для очистки ДНК из
реакционных смесей

Версия 1 от 02.02.2024

1. ОПИСАНИЕ

Магнитные частицы GentaPure Cleanup предназначены для эффективного выделения и очистки фрагментов ДНК длиной более 100 п.н. из ферментативных реакционных смесей, в частности ампликонов- продуктов реакции ПЦР. Принцип работы GentaPure Cleanup заключается в обратимом связывании ДНК с поверхностью магнитных частиц в специально подобранном буфере с оптимальным солевым составом. Не связавшиеся нуклеотиды, праймеры, ферменты, соли и другие возможные компоненты ПЦР смеси удаляются в процессе отмывок. Элюция ДНК с поверхности частиц проводится водой или низкосолевым буфером.

Выделенная ДНК может быть использована для:

- Секвенирование
- Фрагментный анализ
- Клонирование
- Реакции рестрикции
- ПЦР

Магнитные частицы просты в работе и не требуют сложного оборудования. Высокая емкость магнитного сорбента, а также отсутствие стадий вакуумной фильтрации или центрифугирования позволяют быстро и эффективно выделять даже низкие количества ДНК. Еще одним преимуществом использования магнитных частиц является возможность очистки образца из малых объемов (5 мкл) и автоматизация очистки в формате 96-ти или 384-х луночного планшета с использованием автоматических станций.

Набор предназначен только для научных исследований.

2. СОСТАВ

Компонент	REF: GPC-1	REF: GPC-5	REF: GPC-50	REF: GPC-100
GentaPure Cleanup	1 мл	5 мл	50 мл	450 мл

3. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ

Хранить и транспортировать при +4 °С - + 8 °С в сухом, защищенном от света месте в упаковке производителя. Не замораживать!

Срок годности: 24 месяца от даты производства при соблюдении условий хранения и транспортировки.

4. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Объем образца ДНК	5-50 мкл
Размер очищаемой ДНК	не менее 100 п.н.
Рекомендуемое количество ДНК (25 мкл смеси)	10 - 1000 нг
Выход продукта	60-90%*
Рекомендуемый объем элюции	10-50 мкл мкл
Время выделения	~40 мин

*выход продукта во многом зависит от размера и исходного количества ДНК, особенностей состава реакционной смеси и объема элюирующего буфера.

5. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

- Магнитный штатив (не входит в состав набора)
- Вortex-центрифуга низкоскоростная (от 2 400 об/мин)
- Микроцентрифужные пробирки (объем зависит от типа используемого магнитного штатива).
- Вода деионизированная, свободная от нуклеаз или любой низкосолевого раствора для элюции ДНК.
- Этанол 96%.

6. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ

- Перед началом работы достаньте из холодильника суспензию магнитных частиц GentaPure Cleanup инкубируйте около 30 мин при комнатной температуре. Использование холодного реагента может снизить выход ДНК.
- Тщательно перемешайте флакон с реагентом **непосредственно** перед работой.
- Разведите 96% этанол до 85% раствора.

7. ПРОТОКОЛ

1	Оцените объем реакционной смеси с ДНК (X мкл) в пробирке (лунке планшета). Объем пробирки (лунки планшета) должен быть не менее 3*X мкл для удобного перемешивания
2	Тщательно перемешайте флакон с реагентом GentaPure Cleanup
3	Добавьте 2*X мкл (двухкратный объем относительно объема образца) реагента GentaPure Cleanup к образцу с ДНК и тщательно перемешайте пипетированием
4	Инкубируйте 10 мин при комнатной температуре (20-23°C)
5	Поместите пробирку (планшет) в магнитный штатив и дождитесь полного отделения частиц (0.5-2 мин). <i>Не переходите к следующему этапу, пока раствор остается мутным.</i>
6	Удалите надосадочную жидкость, стараясь не захватить частицы
7	Прибавьте к осадку частиц 150 мкл холодного 85% этанола , аккуратно перемешайте содержимое пробирки (лунки планшета)
8	Инкубируйте 30 с при комнатной температуре (20-23°C)
9	Поместите пробирку в магнитный штатив и дождитесь полного отделения частиц (0.5-2 мин). <i>Не переходите к следующему этапу, пока раствор остается мутным.</i>
10	Удалите надосадочную жидкость, стараясь не захватить частицы
11	Повторите п. 7-10 данного протокола
12	Не вынимая пробирки (планшет) из магнитного штатива, инкубируйте с открытыми крышками 10 мин при комнатной температуре. <i>Старайтесь не пересушивать магнитные частицы, это может привести к снижению выхода ДНК.</i>
13	Добавьте необходимое количество (10-50 мкл) 1xTE буфера или очищенной воды для элюции ДНК и тщательно перемешайте осадок пипетированием <i>При сложностях с перемешиванием осадка необходимо увеличить время пипетирования. Выход ДНК существенно зависит от качества ресуспендирования частиц на данной стадии.</i>
	Инкубировать 5 мин при комнатной температуре (20-23°C)
	Поместить пробирку в магнитный штатив и дождаться полного отделения частиц (0.5-2 мин). <i>Если надосадочный раствор мутный или цветной, необходимо увеличить время инкубации на магнитном штативе до 5-10 мин.</i>
	Не снимая пробирки с магнитного штатива, перенести надосадочную жидкость, содержащую очищенную ДНК , в новую чистую пробирку.

8. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ ПРИЧИНЫ

Низкий выход ДНК	<ol style="list-style-type: none"> 1. Недостаточно хорошо был перемешан реагент работой. 2. Потери частиц при отмывках. Следует увеличить время инкубации на магнитном штативе или использовать другой магнитный штатив (сильнее удерживающий осадок частиц). 3. Частицы пересушены. Рекомендуется уменьшить время сушки частиц (пункт 12).
Выделенная ДНК ингибирует последующие реакции	<ol style="list-style-type: none"> 1. Для оценки концентрации ДНК, очищенных частицами GentaPure Cleanup, следует использовать спектрофлуориметрический метод с интеркалирующими красителями. Спектрофотометрия (nanodrop) может давать завышенные показания, что особенно критично при очистке малых количеств ДНК. 2. Следовые количества этанола могут ингибировать ферментативные реакции. Следует увеличить время инкубации на этапе 12 для полого высыхания частиц. Степень высыхания частиц можно контролировать визуально по изменению оттенка осадка с более темного на более светлый.
Реактив GentaPure Cleanup плохо размещивается	Допускается диспергация осадка путём помещения флакона с реагентом в ультразвуковую ванну.
Плохая воспроизводимость результатов выделения	<ol style="list-style-type: none"> 1. Недостаточно хорошо размещен осадок частиц перед работой 2. Обратите внимание на технику дозирования. Реагент немного вязкий и может медленно стекать с внешнего и внутренней стороны наконечника
Элюат ДНК мутный и имеет рыжий оттенок	<p>В элюате присутствуют следовые количества магнитных частиц. Для решения данной проблемы:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Увеличьте время инкубации на магнитном штативе 2. Поменяйте магнитный штатив на более эффективный 3. Размешайте осадок и инкубируйте на магнитном штативе заново 4. В случае, если ничего из вышеперечисленного не помогло, образец следует центрифугировать 5 мин при 12 000 об/мин.

При обнаружении не описанных проблем в работе набора, сообщите производителю по адресу info@genterra.ru. Убедительно просим Вас в письме с описанием проблемы указывать каталожный номер и лот вашего набора.

Уважаемый Пользователь!

Благодарим Вас за выбор продукта от АО «ГенТерра»!

Если у Вас есть рекомендации по улучшению данного продукта или пожелания по расширению нашей линейки продукции, мы будем Вам признательны, если вы предоставите нам обратную связь по адресу info@genterra.ru



ДЛЯ ЗАПИСЕЙ