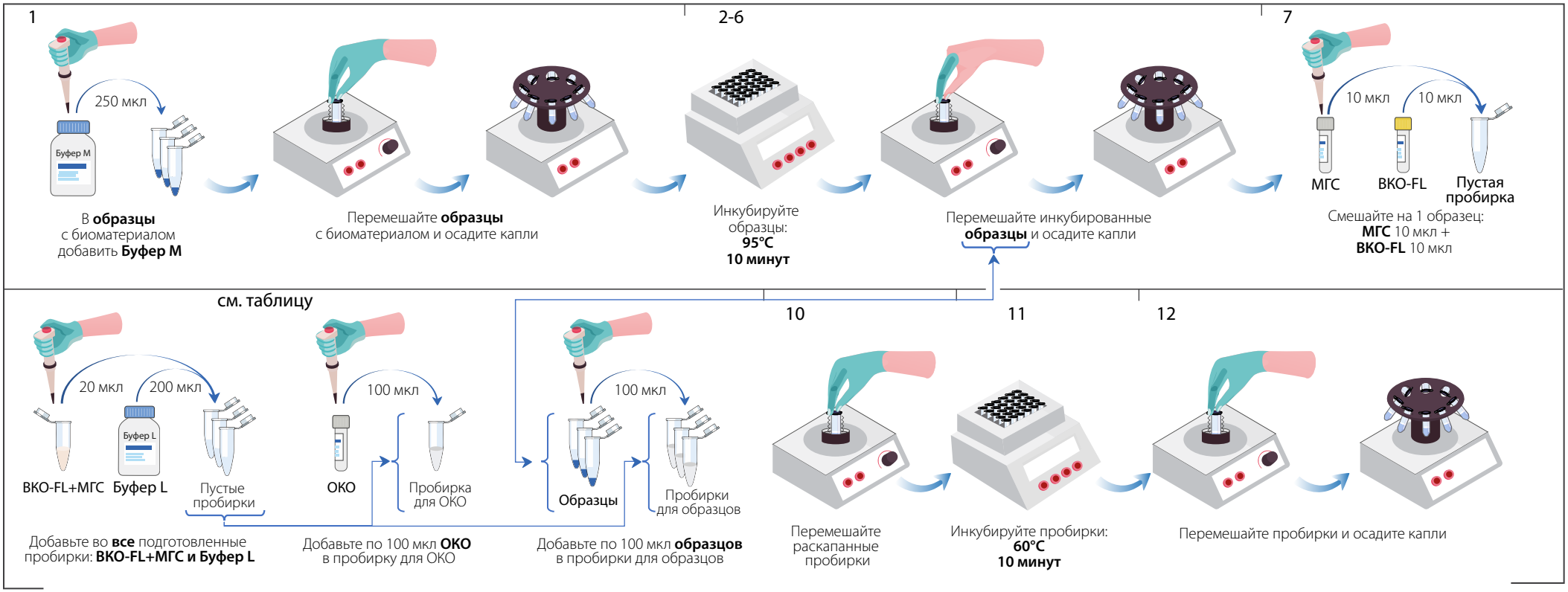
АмплиПрайм

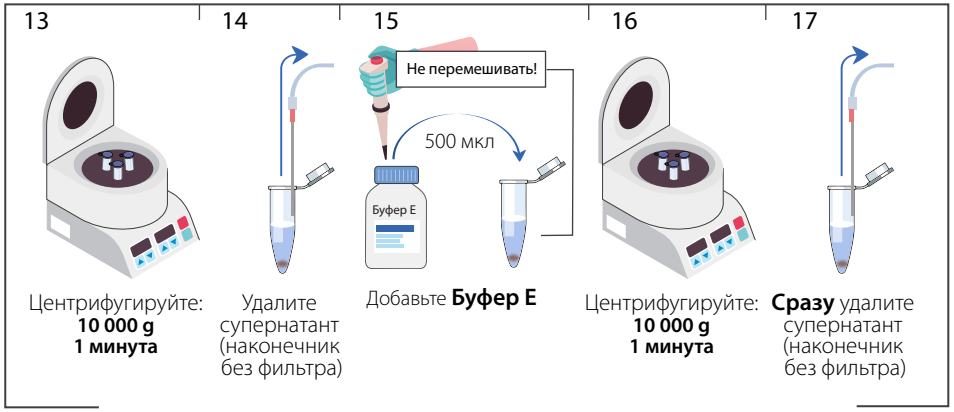
АмплиПрайм® Дерматофиты
Экстракция с использованием **центрифуги**

НекстБИО
Биотехнологическая компания

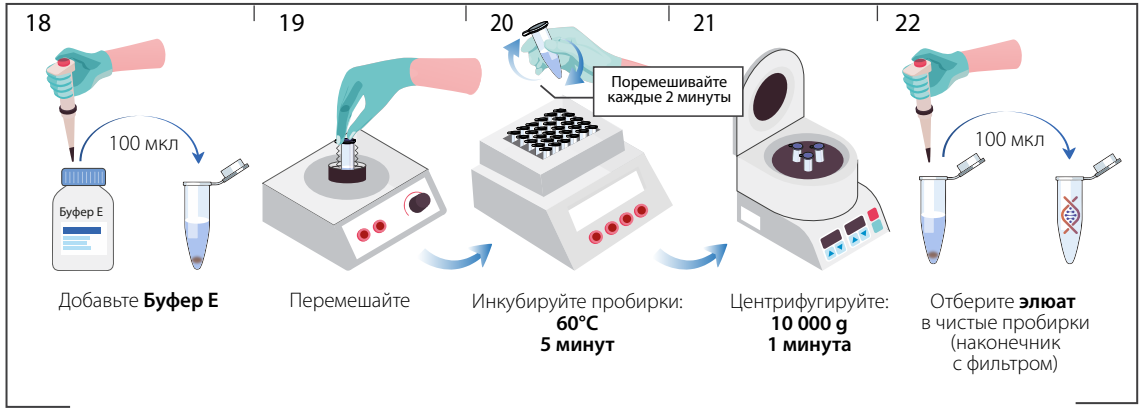
Предварительная обработка и лизис



Отмывка



Элюция



АмплиПрайм® Дерматофиты
Экстракция с использованием **центрифуги**

1. В образцы с биоматериалом добавьте по 250 мкл **Буфера М** отдельным наконечником. Закройте, перемешайте и осадите капли на вортексе.
2. Инкубируйте образцы при температуре **95°С – 10 минут.**
3. Во время инкубации подготовьте пробирки для экстракции объёмом 1,5 мл в количестве +1 от общего количества образцов – для отрицательного контрольного образца (ОКО).
4. Взболтайте флаконы с **Буфером L** и **Буфером Е**.
5. Взболтайте пробирку с **ВКО-FL** и осадите капли на вортексе.
6. Взболтайте пробирку с **МГС** на вортексе до гомогенного состояния. Сбросьте капли вручную, без центрифугирования. Дополнительно перемешайте пипетированием.
7. В отдельной пробирке объёмом 1,5 мл смешайте компоненты в объёмах из расчёта на 1 образец: 10 мкл **ВКО-FL** и 10 мкл **МГС,** учитывая при этом запас на 1 образец, используя для каждого компонента отдельный наконечник. Допускается внесение всего содержимого пробирок с **ВКО-FL** и **МГС** в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от +2 до +25 °С.
8. Инкубированные образцы тщательно перемешайте и осадите капли на вортексе.
9. В пробирки для экстракции внесите согласно схеме:

Смесь ВКО-FL + МГС:	20 мкл	в каждую пробирку
Буфер L:	200 мкл	в каждую пробирку
ОКО:	100 мкл	только в пробирку для отрицательного контроля
Исследуемые образцы:	100 мкл	только в пробирки для исследуемых образцов

10. Плотно закройте пробирки и перемешайте их содержимое на вортексе.
11. Перенесите пробирки в термостат и инкубируйте при температуре **60°С – 10 минут.**
12. Перемешайте и осадите капли на вортексе.
13. Центрифугируйте пробирки при **10 000 g – 1 минуту.**
14. С помощью вакуумного отсасывателя осторожно удалите надосадочную жидкость по внутренней стенке пробирки. Для каждого отбора используйте отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл.
15. Добавьте в каждую по 500 мкл **Буфера Е**. Не перемешивайте пробирки после добавления буфера.
16. Центрифугируйте пробирки при **10 000 g – 1 минуту.**
17. С помощью вакуумного отсасывателя **сразу** удалите надосадочную жидкость по внутренней стенке пробирки. Для каждого отбора используйте отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл.
18. Добавьте в каждую по 100 мкл **Буфера Е.**
19. Перемешайте каждую пробирку на вортексе.
20. Переместите пробирки в термостат и прогревайте при температуре **60°С – 5 минут**, перемешивая каждые **2 минуты.**
21. Центрифугируйте пробирки при **10 000 g – 1 минуту.**
22. Осторожно отберите надосадочную жидкость в отдельные чистые пробирки. Для каждого образца используйте отдельный наконечник с фильтром. Отбирайте жидкость, не захватывая при этом **МГС.** Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК (**элюат**), которую можно использовать только для немедленной амплификации. Если в течение трёх минут после центрифугирования проба не внесена в реакцию, требуется повторное центрифугирование.
23. Очищенная **ДНК** может храниться при температуре от 2 до 8 °С в течение недели, при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение 6 месяцев и при температуре не выше минус 68°С в течение 1 года.

ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ СФЕРЫ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ