

**Набор реагентов
для ферментативной фрагментации ДНК
" FTP Display "**

Инструкция по применению

RUO

Только для исследовательских целей

Содержание

| | |
|---|----|
| Содержание | 2 |
| Введение | 3 |
| Варианты исполнения | 3 |
| 1 Назначение набора | 3 |
| 2 Характеристика набора..... | 3 |
| 2.1 Состав набора реагентов | 3 |
| 2.2 Количество проводимых фрагментаций | 4 |
| 2.3 Принцип действия набора..... | 4 |
| 2.4 Ограничения при применении..... | 5 |
| 3 Меры предосторожности..... | 5 |
| 4 Оборудование и материалы | 6 |
| 4.1 Оборудование, необходимое для работы с набором реагентов..... | 6 |
| 4.2 Материалы, необходимые для работы с набором реагентов | 7 |
| 5 Материал для проведения ферментативной фрагментации | 8 |
| 6 Подготовка к фрагментации | 8 |
| 7 Проведение ферментативной фрагментации | 9 |
| 7.1 Приготовление реакционной смеси для фрагментации | 9 |
| 7.2 Инкубация в амплификаторе..... | 10 |
| 8 Очистка и отбор фрагментов заданной длины..... | 11 |
| 8.1 Очистка | 11 |
| 8.2 Очистка и отбор фрагментов | 12 |
| 9 Оценка результатов ферментативной фрагментации..... | 14 |
| 10 Требования к транспортированию и хранению | 16 |
| 10.1 Транспортирование..... | 16 |
| 10.2 Хранение | 16 |
| 11 Указания по применению..... | 17 |
| 12 Требования к утилизации..... | 17 |
| 13 Гарантийные обязательства | 17 |
| 14 Маркировка..... | 18 |

Введение

Современные генетические технологии, в частности, массовое параллельное секвенирование (NGS), предполагают использование сравнительно небольших фрагментов ДНК (100 – 600 п.н.). Весьма перспективным способом фрагментации ДНК является ферментативная фрагментация молекул, являющаяся более щадящей и контролируемой в сравнении с представленными на рынке технологиями, основанными на механическом воздействии. В данном способе степень фрагментации ДНК достаточно просто контролируется временем и температурой процесса. Фрагментация на основе ферментов способна обеспечивать большую скорость, меньшее время и удобство для автоматизации рабочего процесса, не требуя специального оборудования или расходных материалов.

Варианты исполнения

Набор реагентов для ферментативной фрагментации ДНК "FTP Display" (далее по тексту – набор реагентов) представлен в трёх вариантах исполнения:

- 1). Набор реагентов на 8 реакций "FTP Display (8)";
- 2). Набор реагентов на 24 реакции "FTP Display (24)";
- 3). Набор реагентов на 96 реакций "FTP Display (96)".

1 Назначение набора

Набор реагентов предназначен для ферментативной фрагментации двуцепочечной ДНК (дцДНК) с образованием фрагментов требуемой длины, для последующего построения качественных библиотек NGS. Набор позволяет варьировать размер получаемых фрагментов ДНК в диапазоне 100 – 800 п.н.

Набор реагентов предназначен только для исследовательских целей (RUO).

2 Характеристика набора





2.1 Состав набора реагентов

В состав набора входят следующие реагенты:

- Реакционный буфер,
- Смесь ферментов,
- Активатор,
- Вода для ПЦР.

Состав набора и объем реагентов приведены в таблице 1.

Таблица 1. Состав набора и объем реагентов

| Наименование реагента | Пробирка, шт | Цвет крышки пробирки | Номинальный объем, мкл | | |
|-----------------------|--------------|---|------------------------|---------------|---------------|
| | | | на 8 реакций | на 24 реакции | на 96 реакций |
| Реакционный буфер | 1 |  желтый | 60 | 170 | 675 |
| Смесь ферментов | 1 |  красный | 80 | 240 | 960 |
| Активатор | 1 |  черный | 64 | 192 | 768 |
| Вода для ПЦР | 1 |  белый | 400 | 800 | 1400 |

2.2 Количество проводимых фрагментаций

Набор реагентов на 8 реакций "FTP Display (8)" содержит реактивы для проведения 8 реакций фрагментации.

Набор реагентов на 24 реакции "FTP Display (24)" содержит реактивы для проведения 24 реакций фрагментации.

Набор реагентов на 96 реакций "FTP Display (96)" содержит реактивы для проведения 96 реакций фрагментации.

2.3 Принцип действия набора

Метод ферментативной фрагментации, используемый в наборе, основан на применении смеси двух ферментов: неспецифической эндонуклеазы ДНКазы I и термостабильной SD ДНК-полимераза. SD ДНК-полимераза представляет собой уникальный, инновационный фермент, который сочетает в себе способность вытеснять нити ДНК с сохранением стабильности при температуре до 92°C и имеет максимальный уровень ферментативной активности при 70 – 75°C.

На первом этапе ДНКазы I создает множество случайных одноцепочечных разрывов в дцДНК, образуя полинуклеотиды с концевым-5'-фосфатом и свободной гидроксильной группой на 3'-конце. На следующем этапе, с повышением температуры смеси, активируется SD ДНК-полимераза и достраивает полинуклеотиды с 3'-конца методом полимеризации ДНК с вытеснением цепи. Полученные в результате двуцепочечные фрагменты имеют не только перекрывающиеся последовательности, но и 3'-А-выступы на концах, что позволяет проводить прямое лигирование фрагментов с ДНК-адаптерами, исключая необходимость восстановления и дополнительного аденилирования. Реакция фрагментации останавливается охлаждением реакционной смеси до 10°C.

Фрагментация ДНК через полимеризацию схематично представлена на рисунке 1.



Рис. 1. Ферментативная фрагментация ДНК.

SD ДНК-полимераза показана красным цветом, ДНК, синтезированная *de novo*, показана серым.

2.4 Ограничения при применении

Не рекомендуется использование ферментативной фрагментации для образцов ДНК, полученных из окрашенных клеток или выделенных из тканей, фиксированных в формалине и заключенных в парафиновые блоки (FFPE).

3 Меры предосторожности

- 3.1 Допускать к работе с набором реагентов только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в ПЦР-лаборатории.
- 3.2 Применять набор реагентов строго по назначению, согласно настоящей инструкции.
- 3.3 Работу следует проводить в ПЦР-боксе биобезопасности II класса защиты.
- 3.4 Во избежание риска контаминации проводить выделение образцов ДНК и постановку ПЦР в отдельных помещениях (зонах). Не возвращать образцы, реагенты и оборудование в зону, в которой была проведена предыдущая стадия.
- 3.5 При работе с набором реагентов использовать лабораторную одежду и одноразовые медицинские перчатки без талька. Тщательно вымыть руки по окончании работы.
- 3.6 Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.
- 3.7 При постановке реакций использовать и менять после каждой операции одноразовые наконечники с фильтром для автоматических дозаторов.

Использованные наконечники и пробирки сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство для обеззараживания медицинских отходов.

3.8 Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

3.9 После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все рабочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Провести обработку рабочих поверхностей оборудования дезинфицирующими средствами.

3.10 Не использовать компоненты наборов реагентов из разных серий.

3.11 Не использовать набор реагентов по истечении срока годности, при нарушении условий транспортировки или хранения.

П р и м е ч а н и е – Набор реагентов не содержит веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

3.12 Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, биологический материал и упаковку подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией согласно СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». **ВНИМАНИЕ!** При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, реагентов и оборудования.

4 Оборудование и материалы

4.1 Оборудование, необходимое для работы с набором реагентов

- Автоматические дозаторы одноканальные переменного объема, разных объемов (например, DiscoveryComfort, Corning HTL SA, Польша или аналогичные).
- Амплификатор (например, БИС М111-02-48, ООО «БИС-Н», Россия или аналогичный).
- Магнитный штатив для работы с пробирками объемом 0,2 мл (например, ООО «Компания Хеликон», Россия или аналогичный).

- Мини-центрифуга-вортекс (например, «Микроспин» FV-2400 SIA «Biosan», Латвия или аналогичный).
- ПЦР-бокс 2-го класса биологической защиты для работы с ДНК (например, БАВ-ПЦР-Ламинар-С, ЗАО «Ламинарные системы», Россия или аналогичный).
- Камера для горизонтального электрофореза (например, «SE-2», ООО «Компания Хеликон», Россия или аналогичная).
- Источник питания (например, «Эльф-4», ООО «НПО ДНК–Технология», Россия или аналогичный).
- Трансиллюминатор (например, ECX-F20.M, Vilber Lourmat, Франция или аналогичный).
- Термостол холодный (например, Микротермостат М-210, ООО «БИС-Н», Россия или аналогичный).
- Холодильник с морозильной камерой от минус 18 до минус 25°C (например, ATLANT XM-6023-031, ЗАО «АТЛАНТ», РБ или аналогичный).
- Флуориметр (например, Qubit 4, Thermo Fisher Scientific Inc., США или аналогичный).
- Биоанализатор электрофоретический (например, Bioanalyzer 2100, Agilent Technologies Inc., США или аналогичный).

4.2 Материалы, необходимые для работы с набором реагентов

- Контейнер одноразовый, пластиковый для сброса отходов (например, «ЕК-01», ООО «КМ-ПРОЕКТ», Россия или аналогичный).
- Пробирки микроцентрифужные градуированные, объёмом 0,2; 0,5; 1,5 мл (Axugen Inc., США или Bio-Rad Laboratories Inc., США).
- Наконечники для дозаторов универсальные с фильтром, разных объёмов (например, Axugen Inc., США или аналогичные).
- Перчатки медицинские одноразовые неопудренные нитриловые или латексные (например, TG MEDICAL Sdn. Bhd., Малайзия или аналогичные).
- Штативы для пробирок разных объёмов (например, Axugen Inc., США или аналогичные).
- Магнитные частицы (например, AMPure XP, Beckman Coulter Inc., США или аналогичные).
- Спирт этиловый медицинский 95% (любой производитель).

- Трис-НСI буфер (10 мМ Tris-НСI, рН 8.0–8.5) (любой производитель).
- Агароза (cat # AGAF0500, MP Biomedicals, LLC, США или аналогичная)
- Маркер для электрофореза (например, 100 b.p. DNA ladder, BIORON GmbH, Германия или аналогичный).
- Этидий бромид 1% раствор (любой производитель).
- ТАЕ-буфер для электрофореза (любой производитель).
- Набор реагентов High Sensitivity DNA kit (кат. № 5067-4626, Agilent Technologies Inc., США или аналогичный).

5 Материал для проведения ферментативной фрагментации

В качестве материала для проведения ферментативной фрагментации можно использовать от 10 до 1000 нг любой дцДНК (человека, животных, растений, грибов, бактерий или вирусов), растворенной в воде или буфере (10 мМ Трис-НСI, рН 8.0 – 8.5). Ферментативная реакция фрагментации очень чувствительна к присутствию ЭДТА. Поэтому для препаратов дцДНК растворенных в буфере, содержащем ЭДТА, а также для препаратов дцДНК, выделенных из крови, рекомендуется до фрагментации провести очистку с использованием магнитных частиц (например, AMPure XP, Beckman Coulter Inc., США), из расчета: объем добавляемых частиц равен 3 объемам раствора ДНК. Элюирование провести водой для ПЦР или Трис-НСI буфером.

Перед проведением фрагментации необходимо убедиться, что количество дцДНК в образце находится в указанном диапазоне, используя флуорометрический метод измерения концентраций.

6 Подготовка к фрагментации

6.1 Отобрать и подписать необходимое для работы количество пробирок объемом 0,2 мл в соответствии с количеством и маркировкой исследуемых образцов.

6.2 Рассчитать необходимое количество реагентов для приготовления реакционной смеси с учетом количества образцов, конечных диапазонов длин фрагментов дцДНК и погрешности при пипетировании.

Общий объем всех компонентов в одной пробирке составляет 50 мкл. Из них реакционная смесь составляет 25 мкл, фрагментируемый образец дцДНК – 25 мкл. Объемы реагентов реакционной смеси на одну реакцию фрагментации представлены в таблице 2.

Таблица 2. Объемы реагентов на одну реакцию

| Реактив | Объем, мкл |
|-------------------|-------------------------------------|
| Реакционный буфер | 7 |
| Смесь ферментов | 10 |
| Активатор | 5-8* |
| Вода для ПЦР | Довести до суммарного объема 25 мкл |

*Объем активатора определяется заданным диапазоном длин фрагментов дцДНК.





Определить необходимое количество активатора, пользуясь данными таблицы 3.

Таблица 3. Объем активатора на одну реакцию

| Диапазон длин фрагментов дцДНК, п.н. | Объем активатора, мкл |
|--------------------------------------|-----------------------|
| 150 – 250 | 8 |
| 200 – 350 | 7 |
| 275 – 475 | 6 |
| 350 – 600 | 5 |

6.3 Подготовить реагенты к работе в соответствии с таблицей 4.

Таблица 4. Подготовка реагентов к работе

| Наименование реагента | Цвет крышки пробирки | Подготовка к работе |
|-----------------------|---|---|
| Вода для ПЦР |  белый | Разморозить при комнатной температуре. |
| Реакционный буфер |  желтый | Разморозить при комнатной температуре. Перемешать на вортексе и кратко центрифугировать в течение 1–2 сек при 1000 об/мин |
| Активатор |  черный | Кратко центрифугировать в течение 1–2 сек при 1000 об/мин |
| Смесь ферментов |  красный | Кратко центрифугировать в течение 1–2 сек при 1000 об/мин |

Не использовать вортекс для смеси ферментов, это может привести к их инактивации.

Разместить подготовленные реагенты на термостоле, предварительно охлажденном до 4°C (для охлаждения реагентов можно использовать лед).

7 Проведение ферментативной фрагментации

7.1 Приготовление реакционной смеси для фрагментации

Внести последовательно в отдельную пробирку 7 мкл реакционного буфера, 10 мкл смеси ферментов, выбранный объем активатора, необходимый объем воды для ПЦР. Перемешать на вортексе и сбросить капли на дно пробирки с помощью короткого центрифугирования в течение 1 – 2 сек при 1000 об/мин.

Добавить полученную смесь реакционного буфера, смеси ферментов, активатора и воды для ПЦР в пробирку с 25 мкл образца дцДНК, перемешать на вортексе и сбросить капли на дно пробирки с помощью короткого центрифугирования.

ВАЖНО! После приготовления реакционных смесей оставшиеся реагенты сразу убрать на хранение при минус 18°C.

Поместить пробирки в амплификатор или термостат с прогреваемой крышкой.

7.2 Инкубация в амплификаторе

Оптимальные параметры ферментативной фрагментации в некоторой степени зависят от количества и характера образцов ДНК. Данный протокол фрагментации адаптирован для геномной дцДНК человека и может привести к чрезмерной фрагментации таких образцов, как небольшие вирусные геномы, плазмиды, длинные ампликоны, кДНК. В этом случае, для получения желаемых длин фрагментов, можно адаптировать протокол, изменяя время этапа «Фрагментация». Если получаемые длины фрагментов слишком велики, рекомендуется увеличивать время фрагментации с шагом 5 – 10 минут до достижения оптимального распределения по размерам. Если получаемые длины фрагментов слишком коротки, рекомендуется соответственно уменьшать время фрагментации с шагом 5 – 10 минут.

Инкубировать пробирки в амплификаторе или термостате с прогреваемой крышкой согласно протоколу, представленному в таблице 5.

Таблица 5. Протокол проведения фрагментации

| Этап | Температура, °C | Время, мин |
|---------------------------------|-----------------|------------|
| Фрагментация | 37 | 90 |
| Восстановление и аденилирование | 70 | 20 |
| Охлаждение | 10 | 5 |

ВНИМАНИЕ! Температура подогреваемой крышки амплификатора или термостата должна составлять 80°C.

После завершения протокола фрагментации разместить пробирки на термостолу, предварительно охлажденном до 4°C (для охлаждения пробирок можно использовать лед).

Полученные фрагменты дцДНК не требуют дальнейшего восстановления концов, готовы к очистке и отбору по длине и могут быть использованы в последующих исследованиях.

8 Очистка и отбор фрагментов заданной длины

Для полученных фрагментов исходной ДНК, взятой в количестве менее 100 нг рекомендуется проводить только очистку в соответствии с протоколом, описанным в п. 8.1. Для фрагментов исходной ДНК, взятой в количестве 100 нг и более рекомендуется в зависимости от дальнейших задач проводить очистку в соответствии с п. 8.1 или очистку и отбор по протоколу, описанному в п. 8.2.

8.1 Очистка

Приготовить свежий раствор 80% этилового спирта в достаточном объеме.

Выдержать смесь магнитных частиц при комнатной температуре в течении 15 минут. Перед дальнейшим использованием их необходимо тщательно перемешать.

Добавить 100 мкл перемешанных магнитных частиц в пробирку, содержащую 50 мкл фрагментированной дцДНК. Тщательно перемешать на вортексе. Инкубировать 5 минут при комнатной температуре. Сбросить капли на дно пробирки с помощью короткого центрифугирования.

Поместить пробирку в магнитный штатив. После того, как раствор станет прозрачным (в течение 5 минут), аккуратно удалить супернатант.

ВАЖНО! Не касаться наконечником пипетки магнитных частиц, содержащих целевые фрагменты ДНК.

Внести 200 мкл свежеприготовленного 80% этилового спирта в пробирку с магнитными частицами, не вынимая ее из магнитного штатива. Инкубировать 30 секунд при комнатной температуре, после чего осторожно удалить супернатант. Повторить процедуру промывки спиртом еще раз. Удалить весь оставшийся этанол.

Подсушить содержимое пробирок, оставив их открытыми на 2 минуты при комнатной температуре в магнитном штативе.

ВАЖНО! Не пересушите магнитные частицы. Поверхность частиц должна оставаться темно-коричневой и блестящей. Если поверхность частиц начнет светлеть, немедленно перейти к следующему шагу.

Внести 27 мкл буфера для элюции (10 мМ Трис-НСl, рН 8.0 – 8.5) в пробирку, перемешать на вортексе. Инкубировать 3 минуты при комнатной температуре. Сбросить капли на дно пробирки с помощью короткого центрифугирования.

Поместить пробирку в магнитный штатив. После того, как раствор станет прозрачным (в течение 5 минут), перенести 25 мкл супернатанта, содержащего целевые фрагменты, в новую пробирку.

8.2 Очистка и отбор фрагментов

Приготовить свежий раствор 80% этилового спирта в достаточном объеме.

Выдержать смесь магнитных частиц при комнатной температуре в течении 15 минут. Перед дальнейшим использованием их необходимо тщательно перемешать.

Определить объем магнитных частиц необходимый для очистки полученных фрагментов дцДНК в соответствии с требуемым диапазоном их длин.

Соотношения диапазонов длин фрагментов и объемов магнитных частиц представлены в таблице 6.

Таблица 6. Объем магнитных частиц

| Диапазон длин фрагментов дцДНК, п.н. | Объем магнитных частиц, мкл | |
|--------------------------------------|-----------------------------|----------------|
| | Этап очистки 1 | Этап очистки 2 |
| 150 – 250 | 45 | 15 |
| 200 – 350 | 37,5 | 12,5 |
| 275 – 475 | 32,5 | 10 |
| 350 – 600 | 30 | 10 |

Провести этап очистки 1.

Добавить необходимый объем перемешанных магнитных частиц в пробирку, содержащую 50 мкл фрагментированной дцДНК. Тщательно перемешать на вортексе. Инкубировать 5 минут при комнатной температуре. Сбросить капли на дно пробирки с помощью короткого центрифугирования.

Поместить пробирку в магнитный штатив. После того, как раствор станет прозрачным (в течение 5 минут), осторожно перенести супернатант в другую пробирку.

ВНИМАНИЕ! Не выбрасывать супернатант.

Провести этап очистки 2.

Добавить необходимый, соответствующий этапу очистки 2, объем перемешанных магнитных частиц в пробирку, содержащую супернатант. Тщательно перемешать на вортексе. Инкубировать 5 минут при комнатной температуре. Сбросить капли на дно пробирки с помощью короткого центрифугирования.

Поместить пробирку в магнитный штатив. После того, как раствор станет прозрачным (в течение 5 минут), аккуратно удалить супернатант.

ВАЖНО! Не касаться наконечником пипетки магнитных частиц, содержащих целевые фрагменты ДНК.

Внести 200 мкл свежеприготовленного 80% этилового спирта в пробирку с магнитными частицами, не вынимая ее из магнитного штатива. Инкубировать 30 секунд при комнатной температуре, после чего осторожно удалить супернатант. Повторить процедуру промывки спиртом еще раз. Удалить весь оставшийся этанол.

Подсушить содержимое пробирок, оставив их открытыми на 2 минуты при комнатной температуре в магнитном штативе.

ВАЖНО! Не пересушите магнитные частицы. Поверхность частиц должна оставаться темно-коричневой и блестящей. Если поверхность частиц начнет светлеть, немедленно перейти к следующему шагу.

Внести 27 мкл буфера для элюции (10 мМ Трис-НСl, рН 8.0 – 8.5) в пробирку, перемешать на вортексе. Инкубировать 3 минуты при комнатной температуре. Сбросить капли на дно пробирки с помощью короткого центрифугирования.

Поместить пробирку в магнитный штатив. После того, как раствор станет прозрачным (в течение 5 минут), перенести 25 мкл супернатанта, содержащего целевые фрагменты, в новую пробирку.

Полученные очищенные фрагменты могут быть использованы для прямого лигирования с ДНК-адаптерами и дальнейшей пробоподготовки для проведения массового параллельного секвенирования.

9 Оценка результатов ферментативной фрагментации

Для оценки эффективности ферментативной фрагментации рекомендуется провести электрофорез в агарозном геле, оценить длины полученных фрагментов дцДНК. Более точные результаты распределения размеров фрагментов ДНК можно получить, проведя анализ приборных данных капиллярного электрофореза.

Фрагментация образцов дцДНК была проведена по стандартному протоколу в соответствии с п. 7. Фрагменты ДНК с разными диапазонами длин были очищены в соответствии с протоколом, описанным в п. 8.1.

Ниже показаны результаты электрофореза геномной дцДНК и фрагментационные профили, полученные на биоанализаторе Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies Inc., США). Полученная электрофореграмма представлена на рисунке 2.

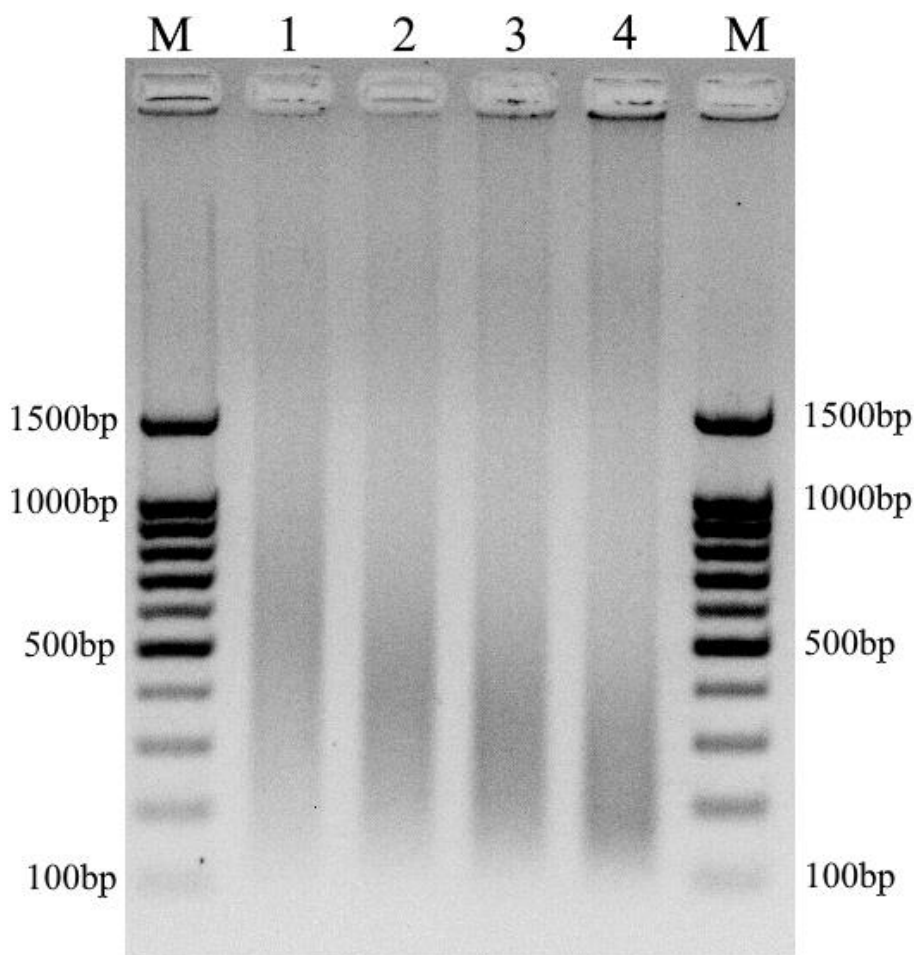


Рис. 2. Электрофорез геномной ДНК, фрагментированной методом FTP. Электрофорез геномной ДНК (100 нг) проводили в 1x TAE 2% агарозном геле при 110 В, в течение 45 мин. М – маркер. В карманы 1, 2, 3, 4 внесены образцы, содержащие фрагменты разного размера: 350–600; 275–475; 200–350; 150–250 п.н.

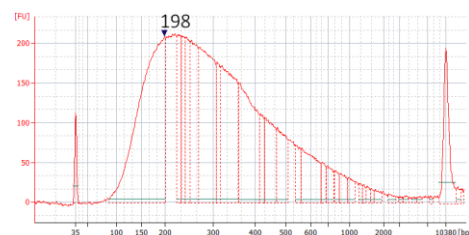
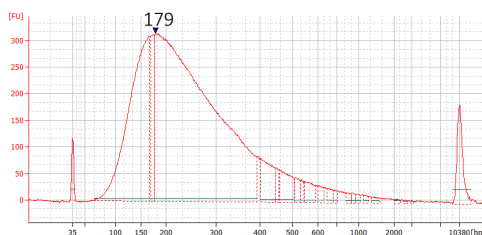
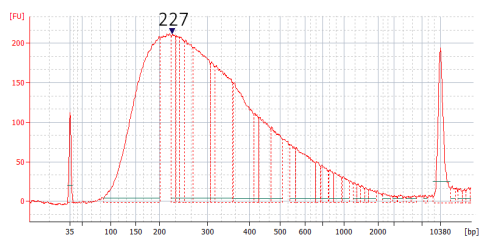
Фрагментационные профили, полученные для трех типов образцов ДНК, представлены на рисунке 3.

ДНК человека (100 нг)

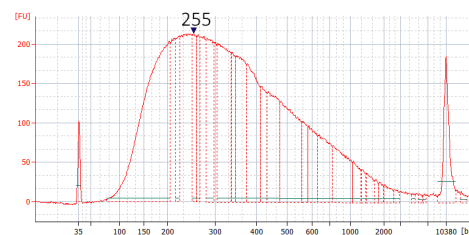
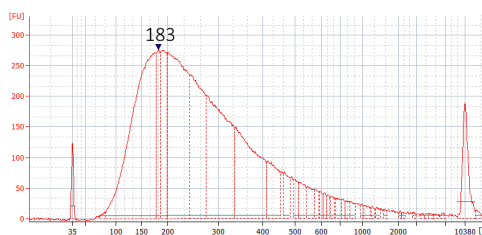
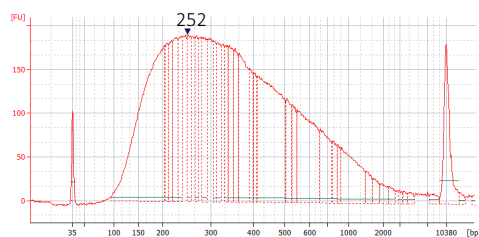
E. coli (100 нг)

Ампликон, 2.0 kb (100 нг)

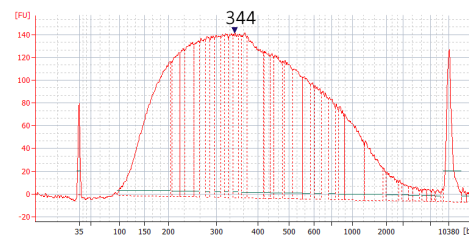
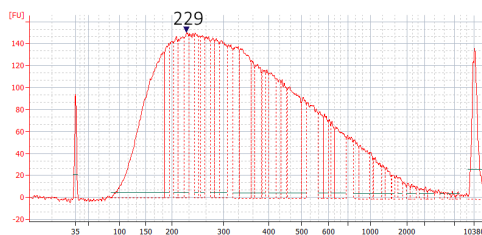
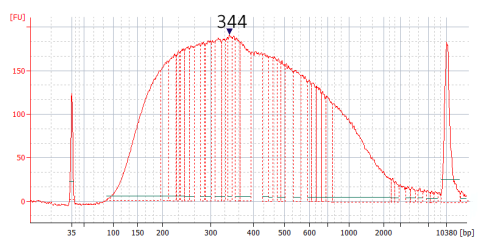
150 – 250 п.н.



200 – 350 п.н.



275 – 475 п.н.



350 – 600 п.н.

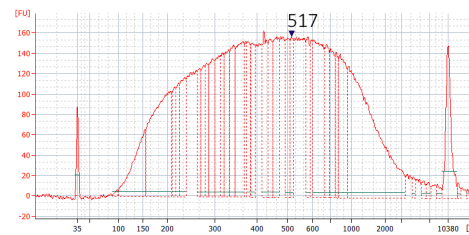
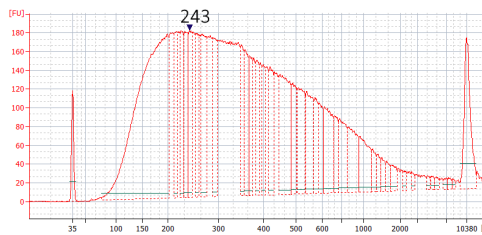
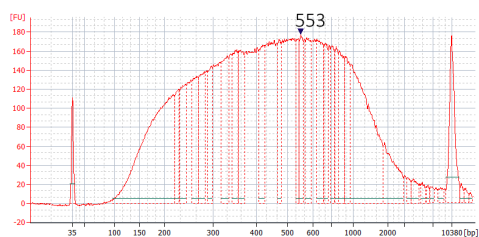
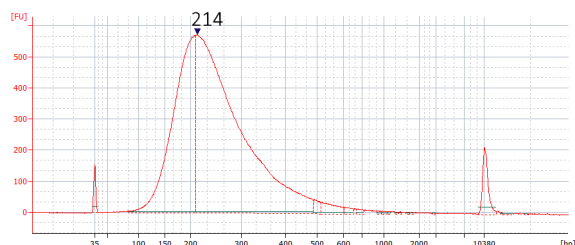


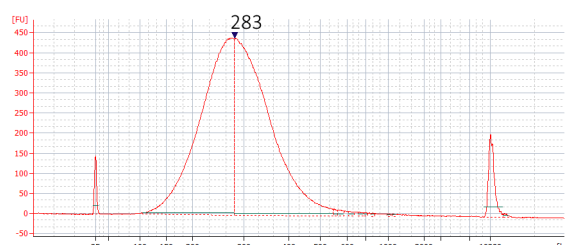
Рис. 3. Примеры фрагментационных профилей. Получены с использованием набора High Sensitivity DNA kit (Agilent Technologies Inc., США).

Фрагментационные профили ДНК человека (100 нг) после очистки и отбора фрагментов в соответствии с протоколом, описанным в п. 8.2, представлены на рисунке 4.

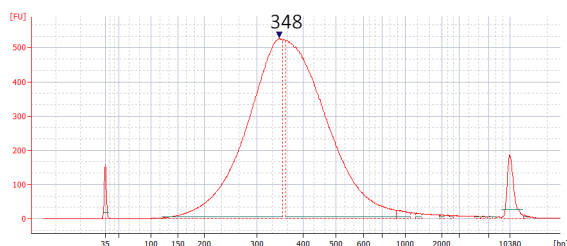
150 – 250 п.н.



200 – 350 п.н.



275 – 475 п.н.



350 – 600 п.н.

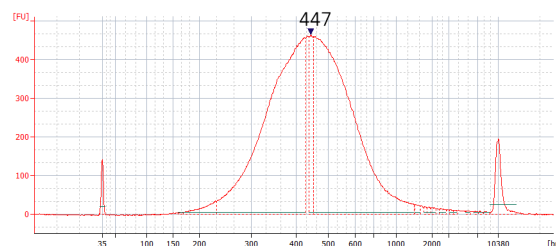


Рис. 4. Примеры фрагментационных профилей ДНК человека. Указаны средние значения длин фрагментов. Получены с использованием набора High Sensitivity DNA kit (Agilent Technologies Inc., США).

10 Требования к транспортированию и хранению

10.1 Транспортирование

Транспортирование набора реагентов осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре не выше минус 18°C.

Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.2 Хранение

Набор реагентов следует хранить в холодильнике или морозильной камере при температуре от минус 18 до минус 22°C в течение всего срока годности набора.

Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

11 Указания по применению

- 11.1 Набор реагентов должен применяться согласно инструкции по применению.
- 11.2 В процессе постановки эксперимента компоненты набора рекомендуется хранить на термостоле с температурой 4°C или в штативе с охлаждением (на льду).
- 11.3 Следует избегать излишних (более пяти) циклов замораживания-размораживания реакционного буфера, активатора. Если набор предполагается использовать на длительном промежутке времени с постановкой небольшого количества реакций, вышеперечисленные реактивы рекомендуется предварительно разделить на аликвоты.
- 11.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

12 Требования к утилизации




- 12.1 При использовании набора реагентов образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.
- 12.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, и неиспользованные реактивы относятся к классу Б и подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.
- 12.3 Упаковка набора реагентов (коробки картонные) после использования по назначению, относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

13 Гарантийные обязательства

- 13.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик набора реагентов требованиям нормативной и технической документации в течении указанного срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.
- 13.2 Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.
- 13.3 Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по телефону: +7 (383)382-99-80.
- 13.4 Рекламации по вопросам качества набора реагентов "FTP Display" следует направлять в ООО «ДНК-дисплей» по адресу: 630090 г. Новосибирск, ул. Николаева, 13. Тел: +7 (383)382-99-20, e-mail: dna-display@mail.ru

14 Маркировка

Маркировка потребительской упаковки содержит следующие графические символы:

| | | | |
|--|--|--|---------------------------------------|
|  | <p>Содержимого достаточно для проведения указанного количества реакций</p> |  | <p>Номер по каталогу</p> |
|  | <p>Температурный диапазон (условия хранения и транспортирования)</p> |  | <p>Номер серии</p> |
|  | <p>Обратитесь к инструкции по применению</p> |  | <p>Дата изготовления (месяц, год)</p> |
|  | <p>Изготовитель</p> |  | <p>Использовать до (месяц, год)</p> |

Адрес: 630090, г. Новосибирск, ул. Николаева, 13
Телефон: (383)382-99-80
E-mail: dna-display@mail.ru
Веб-сайт: dna-display.ru