

Návod k použití**D-Pure™ Dye Terminator Removal Kit****Verze: 2.1****Ref: IFU-DPURE****Datum revize: 1.2. 2023****Informace o produktu a výrobci****D-Pure™ Dye Terminator Removal Kit****REF**

DP-005, DP-050, DP-500

RUO








Pouze pro výzkum



NimaGen B.V.
Hogelandseweg 88
6545 AB Nijmegen
The Netherlands
Tel: +31 (0)24 820 02 41
Email: info@nimagen.com

**QUALITY MANAGEMENT SYSTEM**ISO 9001:2015 FM 711484
ISO 13485:2016 MD 711483

Symbole použité na obalu

Symbol	Popis
	Výrobce
	Spotřebujte do data expirace
	Číslo šarže
	Číslo reference
RUO	Pouze pro výzkum
	Teplotní limit pro skladování
	Obsah dostatečný pro <n> testů
	Kód obsahující číslo reference, číslo šarže a datum expirace

Popis produktu

D-Pure™ Dye Terminator Removal Kit je založený na technologii magnetických kuliček a účinně čistí sekvenační reakce zakončené barvivem. D-Pure™ pracovní postup zahrnuje tři jednoduché kroky: vazbu, promytí a eluci. Při selektivním navázání sekvenačního produktu na magnetické kuličky, neinkorporované barvivo, nukleotidy, soli a primery jsou odstraněny během promývání etanolem. To umožňuje eluci čistého Sangerova sekvenačního produktu v elučním pufru dle výběru.

Pracovní postup nezahrnuje žádné kroky odstředování nebo vakuové filtrace, a proto je možné ho upravit pro plnou automatizaci pomocí manipulátorů kapalin ve spojení s 96-jamkovými nebo 384-jamkovými magnetickými destičkami Alpaqua®. Postup lze také snadno provést ručně.

D-Pure™ je kompatibilní s NimaGen BrilliantDye™ a Thermo Fisher BigDye® Terminator Cycle Sequencing Kity (v1.1 a v3.1). D-Pure™ je široce dostupný jako osvědčené vysoce kvalitní čisticí činidlo pro laboratoře používající genetické analyzátoři 310, 3100, 3130, 3500, 3730 nebo sérii SeqStudio™. Purifikované barvivo značené produkty lze vložit přímo do genetického analyzátoři bez nutnosti resuspenze.

Obsah kitu a skladování

D-Pure™ Dye Terminator Removal Kity obsahují roztok magnetických kuliček připravený ihned k použití pro čištění 500 až 100 000 sekvenačních reakcí při použití 96- nebo 384-jamkových destiček:

Reference	Objem	# Reakcí (96-jamek)	# Reakcí (384-jamek)	Skladování
DP-005	5 mL	500	1 000	Skladujte kit při 4°C, chraňte před světlem
DP-050	50 mL	5 000	10 000	
DP-500	500 mL	50 000	100 000	

Požadovaný materiál, který není součástí kitu

Popis
Etanol 80%, jakost pro molekulární biologii
Eluční pufr (0,1 mM EDTA pH 8,0 nebo diH ₂ O)

96- nebo 384-jamkové destičky, kompatibilní s genetickým analyzátozem
(Vícekanálové) Pipety, včetně jednorázových špiček s filtrem
Magnetická destička Alpaqua®, 96-jamková nebo 384-jamková

Obecná bezpečnostní opatření

Přečtěte si bezpečnostní list (MSDS) a dodržujte pokyny pro manipulaci. Dodržujte správnou laboratorní praxi a používejte ochranné brýle, rukavice a laboratorní plášť při manipulaci se suspenzí magnetických kuliček dodávanou v této sadě. Pokud dojde ke kontaktu s roztokem kuliček, opláchněte dané části těla okamžitě s velkým množstvím vody. V případě potřeby vyhledejte lékařskou pomoc.

Protokol (96 jamek)

1. Resuspendujte roztok kuliček D-Pure™ protřepáním.
2. Do každého vzorku přidejte 10 µl homogenizovaného roztoku kuliček D-Pure™.
3. Přidejte 42 µl (pro 10 µl sekvenační reakce) nebo 62 µl (pro 20 µl sekvenační reakce) 80% etanolu do každého vzorku a ihned promíchejte pipetováním nahoru a dolů.
4. Umístěte destičku se vzorky na 96-jamkovou magnetickou destičku; počkejte (3 minuty) nebo dokud není roztok čirý.
5. Zatímco je destička na magnetu, odsajte roztok (supernatant) z jamek a zlikvidujte ho. Zajistěte, aby nedošlo k narušení kuliček pipetováním ze dna jamek.
6. Na magnetu přidejte 100 µl 80% etanolu do každé jamky; počkejte (30 sekund).
7. Na magnetu odsajte etanol a zlikvidujte jej.
8. Opakujte kroky 6 a 7 pro celkem dvě promytí etanolem. Zejména v posledním aspiračním kroku zajistěte úplné odstranění etanolu.
9. Vypněte magnet, vysušte vzorky na vzduchu při pokojové teplotě (3-10 min). Vzorky nepřesušte, protože to může degradovat fluorescenční barvivo.
10. Přidejte 40 µl elučního pufru (0,1 mM EDTA pH 8,0 nebo diH₂O), promíchejte a inkubujte při pokojové teplotě (5 min).
11. Umístěte destičku se vzorky na magnetickou destičku; počkejte (3 minuty, nebo dokud není roztok čirý).
12. Ponechte destičku se vzorky na magnetu a přeneste 30-35 µl čirého roztoku do nové destičky, kompatibilní s genetickým analyzátozem. Vzorky jsou nyní připraveny pro další aplikaci.

POZNÁMKA: Nechte 5-10µl čirého roztoku, aby se zabránilo přenosu kuliček, protože by mohly interferovat s následnými aplikacemi. Pokud se kuličky přenesou, umístěte vzorky zpět na původní destičku a znovu je přeneste do nové destičky.

Protokol (384 jamek)

1. Resuspendujte roztok D-Pure™ kuliček protřepáním.
2. Do každého vzorku přidejte 5 µl homogenizovaného roztoku kuliček D-Pure™.
3. Přidejte 31 µl (pro 5 µl sekvenační reakce) 80% etanolu do každého vzorku a ihned promíchejte pipetováním nahoru a dolů.
4. Umístěte destičku se vzorky na magnetickou 384-jamkovou destičku; počkejte (3 minuty) nebo dokud není roztok čirý.
5. Zatímco je destička na magnetu, odsajte roztok (supernatant) z jamek a zlikvidujte ho. Zajistěte, aby nedošlo k narušení kuliček pipetováním ze dna jamek.
6. Na magnetu přidejte 40 µl 80% etanolu do každé jamky; počkejte (30 sekund).
7. Na magnetu odsajte etanol a zlikvidujte jej.
8. Opakujte kroky 6 a 7 pro celkem dvě promytí etanolem. Zejména v posledním aspiračním kroku zajistěte úplné odstranění etanolu.
9. Vypněte magnet, vysušte vzorky na vzduchu při pokojové teplotě (10 min). Vzorky nepřesušte, protože to může degradovat fluorescenční barvivo.
10. Přidejte 25 µl elučního pufru (0,1 mM EDTA pH 8,0 nebo diH₂O), promíchejte a inkubujte při pokojové teplotě (5 min).
11. Umístěte destičku se vzorky na magnetickou destičku; počkejte (3 minuty, nebo dokud není roztok čirý).
12. Ponechte destičku se vzorky na magnetu a přeneste 20 µl čirého roztoku do nové destičky, kompatibilní s genetickým analyzátozem. Vzorky jsou nyní připraveny pro další aplikaci.

POZNÁMKA: Nechte 5µl čirého roztoku, aby se zabránilo přenosu kuliček, protože by mohly interferovat s následnými aplikacemi. Pokud se kuličky přenesou, umístěte vzorky zpět na původní destičku a znovu je přeneste do nové destičky.