

ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗ ОБРАЗЦОВ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ с помощью буфера для экспресс - лизиса «STR GO! Lysis Buffer» и набора «Investigator 24plex GO! Kit»

Протокол экспресс анализа образцов буккального эпителия оптимизирован для массового типирования лиц (образцы на свабах, зонд-тампонах, марле, ватных дисках). Протокол полностью совместим с оборудованием и оснащением экспертно-криминалистических лабораторий МВД.

Полное время исследования до получения профиля составляет 2.5 часа.

Протокол

1. Аккуратно вырезать фрагмент предмета-носителя с образцом.
2. Поместите образец в 2 мл микроцентрифужные пробирку. Приготовьте чистый тампон в качестве отрицательного контроля!
3. Добавить 500 мкл Лизис буфера GO! для образца (возможен вариант работы в объеме 250 мкл).
4. Инкубируйте в термошейкере при температуре (95°C) в течение 5 мин и встряхивании при 1200 об / мин, или при комнатной температуре в течение 5 мин и встряхивании при 1200 об / мин.
5. Рассчитайте и приготовьте ПЦР-смесь с компонентами набора «Investigator 24plex GO! Kit» в отдельной 1,5 мл пробирке исходя из следующего расчета:

Компонент	Объем на реакцию	Кол-во на n реакции
Реакционная смесь	7,5 мкл	7,5 мкл x n (+10%)
Смесь праймеров	12,5 мкл	12 мкл x n (+10%)
Investigator STR GO! Punch Buffer (при работе с FTA-картами)	3,0 мкл	3,0 мкл x n
Компонент	Половинный объем на реакцию	Кол-во на n реакции
Реакционная смесь	3,75 мкл	3,75 мкл x n (+10%)
Смесь праймеров	6,25 мкл	6,25 мкл x n (+10%)
Investigator STR GO! Punch Buffer (при работе с FTA-картами)	2,0 мкл	2,0 мкл x n

6. Смешайте реагенты, встряхните пробирку с ПЦР-миксом на вортексе и кратно центрифугируйте.
7. Разлейте по 20 мкл в пробирки или лунки плашки для ПЦР. Мастер-микс содержит все компоненты, необходимые для ПЦР. Подготовить объем реакционной смеси 10% больше, чем требуется для общего количества ПЦР-анализы, которые необходимо выполнить. Это должно включать положительный и отрицательный контроль реакции.
8. Тщательно перемешайте лизат и перенесите в каждую реакцию. Приготовьте положительный и отрицательный контроли. Положительный контроль: используйте 1 мкл контрольной ДНК (то есть, 5 НГ).
9. Запрограммируйте амплификатор в соответствии с таблицей, поместите реакционный планшет или ПЦР-пробирки с образцами в амплификатор и запустите ПЦР.

Температура	Время	Количество циклов
98°C*	30 с	3 цикла
64°C	40 с	
72°C	5 с	
96°C	10 с	24 циклов
61°C	40 с	
72°C	5 с	
68°C	2 минуты	-
10°C	2 минуты	∞

10. После проведения ПЦР приступите к приготовлению ваших образцов для фрагментного анализа на генетическом анализаторе.

Подготовка образцов

11. Перед открыванием пробирок перемешивайте их содержимое вихревым способом, а затем
12. Кратковременно центрифугируйте, чтобы собрать содержимое, осевшее на дно.

Приготовьте смесь формамида и стандарта длины ДНК согласно таблицы.

Компонент	Объем на один образец
Формамид Hi-Di Formamide	12,0 мкл
Стандарт длины ДНК DNA Size Standard 24 plex (ВТО)	0,5 мкл

13. Перемешайте смесь вихревым способом, а затем кратковременно центрифугируйте ее.
14. Внесите смесь формамида и размерного стандарта объемом 12 мкл в пробирку для каждого образца, подлежащего анализу.
15. Добавьте 1 мкл продукта ПЦР или аллельного лэддера (при необходимости разбавив его).
16. Денатурируйте в течение 3 мин при температуре 95°C.
17. Быстро заморозьте, поместив планшет на лед на 3 мин.
18. Вместо этого можно охладить планшет с помощью термоциклера, установленного на 4°C.

Примечание. Поскольку материал вводится одновременно во все капилляры, в планшеты многокапиллярных анализаторов необходимо вносить пипеткой не менее 1 полной колонки (протокол для 8 образцов) или 3 полных колонок (протокол для 24 образцов) материала. При анализе меньшего количества образцов пустые позиции необходимо заполнить 12 мкл формамида Hi-Di Formamide

19. Поместите планшет в генетический анализатор и приступите к запуску электрофореза.