

Размерные стандарты ДНК

Все наборы *ТАПОТИЛИ* комплектуются размерными стандартами ДНК из расчёта 30 постановок на один набор на один локус. Для микро- и минисателлитных локусов используются разные такие стандарты.

Это нелокусные высокомолекулярные стандарты ДНК, то есть они не содержат продуктов амплификации используемых в наборах локусов.

Размерные стандарты поставляются в буфере следующего состава: 8,33 mM Трис-НСl (рН 7,8), 0,83 mM ЭДТА, 1X буфер для нанесения на гель. Концентрация ДНК, в зависимости от стандарта, находится в диапазоне от 100 до 170 нг/мкл.

Все размерные стандарты ДНК следует хранить в электрофоретической зоне. При регулярном (ежедневном) использовании – при +4°C, более длительное хранение осуществляется при -20°C. Растворы стабильны на протяжении не менее 24 месяцев при хранении при -20°C. В целом, все стандарты также выдерживают длительное хранение (30 дней и более) и при комнатной температуре, без деградации фрагментов ДНК.

Высокомолекулярные стандарты ДНК готовы для использования: после полного размораживания и короткого перемешивания на Вортексе в лунки геля наносят по **1,0-2,5 мкл** (агарозные гели) или по **0,5-1,5 мкл** (полиакриламидные гели, ПАГ) поставляемых растворов, в зависимости от процентности и толщины используемых гелей.

В таблице на следующей странице приведён перечень всех доступных к поставке маркёров, с указанием всех фрагментов ДНК в каждом таком маркёре. Для размерных стандартов ДНК, полученных с использованием эндонуклеаз рестрикции, размеры фрагментов рассчитаны по сайтам рестрикции.

Подчёркнуты фрагменты, которые обычно не видны в агарозных гелях. **Жирным шрифтом**, наоборот, выделены фрагменты, визуально более интенсивные в гелях.

Дополнительно в таблице приведены все актуальные на текущий момент **псевдоаллельные лестницы** для минисателлитных локусов: *DIS80-№1*, *DIS80-№2*, *DIS111*, *ApoB-3'VNTR*, *IgH-VNTR*, *D17S5*. Эти лестницы не содержат продуктов амплификации соответствующих локусов, поэтому также являются нелокусными высокомолекулярными стандартами ДНК.

Псевдоаллельные лестницы поставляются в смеси с буфером для нанесения на гель. Их также следует хранить в электрофоретической зоне. Растворы стабильны на протяжении не менее 24 месяцев при хранении при -20°C. Допустимо хранение при +4°C при регулярном использовании.

Растворы псевдоаллельных лестниц готовы для использования: после полного размораживания и короткого перемешивания на Вортексе в лунки геля наносят по **1,5-2,5 мкл** (агарозные гели) или по **0,5-2,0 мкл** (ПАГ) поставляемых растворов, в зависимости от процентности и толщины используемых гелей.

Все нелокусные высокомолекулярные стандарты ДНК пригодны для использования в агарозных гелях.

При использовании этих маркёров в неденатурирующих ПАГ (29:1 или 19:1, различной процентности) следует учитывать, что в ПАГ подвижность отдельных фрагментов ДНК может являться аномальной. Как следствие, это может привести к некорректному определению размеров амплифицированных аллелей генотипируемых полиморфных локусов.

Например, для высокомолекулярного стандарта *pBR322 DNA / AluI* в неденатурирующих ПАГ (6-10%, 29:1) аномальную подвижностью демонстрируют фрагменты ДНК размером 659, 656, 403 и 257 п.н.

В последнем столбце таблицы отмечена возможность использования конкретного размерного стандарта в ПАГ.

Внимание! По согласованию с заказчиком возможна дополнительная поставка **псевдоаллельных лестниц** в любых количествах для следующих минисателлитных локусов: *DIS80 (№1, №2)*, *DIS111*, *ApoB-3'VNTR*, *IgH-VNTR*, *D17S5*.

Стандартно один набор для перечисленных локусов комплектуется **40 мкл** соответствующего раствора, на 20 постановок. Для локуса *DIS80* каждый набор комплектуется двумя пробирками: псевдоаллельные лестницы №1 и №2 (по 40 мкл каждого раствора).

Характеристики размерных стандартов ДНК, используемых в наборах ТАПОТИЛИ

Высокомолекулярные стандарты ДНК	Общее число фрагментов ДНК	Длины фрагментов ДНК, в парах нуклеотидов	Использование в ПАГ
<i>pUC19 DNA / MspI</i>	13	501; 489; 404; 331; 242; 190; 147; 111; 110; <u>67; 34; 34; 26</u>	+
<i>50 – 1000 bp DNA Ladder</i>	11	1000; 900; 800; 700; 600; 500; 400; 300; 200; 100; 50	+
<i>100 bp DNA Ladder</i>	10	1000; 900; 800; 700; 600; 500 ; 400; 300; 200; 100	-
<i>50 – 500 bp DNA Ladder</i>	10	500; 450; 400; 350; 300; 250; 200; 150; 100; 50	+
<i>50 – 700 bp DNA Ladder</i>	10	700; 500 ; 400; 350; 300 ; 250; 200; 150; 100; 50	+/- (фрагмент 300)
<i>800 – 2000 bp DNA Mass Ladder (*)</i>	3	2000; 1200; 800	-
Псевдоаллельные лестницы для минисателлитных локусов			
<i>Псевдоаллельная лестница DIS111</i>	17	973; 936; 899; 862; 825; 788; 751; 714; 677; 640; 603; 566; 529; 492; 455; 418; 381	+
<i>Псевдоаллельная лестница D17S5</i>	15	1150; 1080; 1010; 940; 870; 800; 730; 660; 590; 520; 450; 380; 310; 240; 170	+
<i>Псевдоаллельная лестница ApoB-3'VNTR</i>	13	930; 900; 870; 840; 810; 780; 750; 720; 690; 660; 630; 600; 570	+
<i>Псевдоаллельная лестница IgH-VNTR</i>	12	1020; 970; 920; 870; 820; 770; 720; 670; 620; 570; 520; 470	+
<i>Псевдоаллельная лестница DIS80-№1</i>	11	702; 672; 638; 606; 574; 542; 510; 478; 446; 414; 382	+
<i>Псевдоаллельная лестница DIS80-№2</i>	11	718; 686; 654; 622; 590; 558; 526; 494; 462; 430; 398	+
Высокомолекулярные стандарты ДНК, снятые с поддержки (**)			
<i>pBR322 DNA / Tapotili</i>	29	421; 404; 368; 307; 242; 201; 190; 180; 170; 160; 147 ; 136; 130; 123; 119; 118; 110; 108; 106; <u>90; 76; 67; 47; 41; 34; 26; 15; 11; 9</u>	+
<i>pBR322 DNA / MspI</i>	21	622; 527; 404; 307; 242; 238; 217; 201; 190; 180; 160; 147; 123; 110; <u>90; 76; 67; 34; 26; 9; 5</u>	+
<i>pBR322 DNA / BsuRI (HaeIII)</i>	22	587; 540; 502; 458; 434; 267; 234; 213; 192; 184; 124; 123; 104; 89; 80; <u>64; 57; 51; 21; 18; 11; 8</u>	+
<i>pBR322 DNA / AluI</i>	17	908; 659; 656; 521; 403; 281; 257; 226; 100; 90; <u>63; 57; 49; 46; 19; 15; 11</u>	- (фрагменты 659, 656, 403, 257)

Высокомолекулярные стандарты ДНК	Общее число фрагментов ДНК	Длины фрагментов ДНК, в парах нуклеотидов	Использование в ПАГ
Высокомолекулярные стандарты ДНК, снятые с поддержки (**)			
<i>pBlueScript DNA / MspI</i>	13	710; 489; 404; 325; 242; 190; 157; 147; 110; <u>67; 57; 34; 26</u>	+
50 – 2000 bp PCR Marker	8	2000; 1500; 1000; 750; 500; 300; 150; 50	+

(*) Высокомолекулярный стандарт ДНК **800 – 2000 bp DNA Mass Ladder** следует использовать для количественной оценки ДНК в продуктах ПЦР путём сравнения интенсивности свечения фрагментов ДНК. При нанесении **3 мкл** этого маркера на агарозный электрофорез количество ДНК в соответствующих фрагментах следующее: **2 000 bp = 50 ng; 1 200 bp = 30 ng; 800 bp = 20 ng.**

(**) Для высокомолекулярных стандартов ДНК, снятых с поддержки, информация в таблице сохраняется справочно. Поставка отдельных таких маркеров возможна только под заказ.

6X Буфер для нанесения на гель (6X Loading Solution)

Все наборы ТАПОТИЛИ комплектуются 6X буфером для нанесения на гель из расчёта 500 мкл на один набор на один локус. Для всех локусов используется единый буфер. Этот же буфер включён в состав всех размерных стандартов ДНК.

Используется для нанесения образцов после ПЦР на гели.

Состав: 10 mM Tris-HCl (pH 7.6), 0,03% бромфеноловый синий (*bromophenol blue*), 0,03% ксиленианол (*xylene cyanol FF*), 60% глицерин, 60 mM ЭДТА.

Хранить в электрофоретической зоне при +4°C при регулярном использовании. Более длительное хранение осуществляется при -20°C.

Дополнительная информация

- Наборы ТАПОТИЛИ предназначены для исследовательских работ *in vitro* (то есть в пробирке, вне живого организма).
- Наборы не подлежат обязательной сертификации и декларированию соответствия в Системе сертификации ГОСТ Р.
- Коды продукции [ОКПД2](#) (ОК 034-2014, КПЕС 2008): **20.59.52.190** (Реагенты сложные диагностические или лабораторные, не включенные в другие группировки), **20.59.52.199** (Реагенты сложные диагностические или лабораторные прочие, не включенные в другие группировки).
- Наборы ТАПОТИЛИ не являются изделием медицинского назначения, не предназначены для использования в целях медицинской диагностики, для диагностических процедур, для профилактики и лечения заболеваний. По этим причинам наборы ТАПОТИЛИ не подлежат государственной регистрации на территории РФ (в том числе в Росздравнадзоре) в качестве медицинского изделия.
- Молекулярно-генетические исследования (МГИ) по установлению генотипов отдельных лиц, в том числе по идентификации личности и установлению спорного родства методом анализа полиморфных локусов генома человека не являются медицинской деятельностью: устанавливаются именно биологические факты (генотипы обследуемых лиц).
- Результаты МГИ мы рекомендуем оформлять в виде Заключения специалиста, отчёта о НИР и аналогичных документов, не являющихся медицинскими документами.
- Интерпретация медицинской значимости полученных данных и принятие клинического решения относится к компетенции врача.
- The Tapotili Kit is intended for molecular biology applications, including forensic or paternity usage. This product is not intended for the diagnosis, prevention, or treatment of a disease.

Техническое содействие / информация

Благодарим Вас за то, что Вы предпочли нашу продукцию и будем рады продолжить сотрудничество. Дополнительная информация о других наборах **Тапотили** (полная инструкция) доступна по ссылке:

<https://tapotili.ru/doc/tapotili.pdf>.

Актуальная версия непосредственно этого описания доступна здесь:

https://tapotili.ru/doc/tapotili_dna_markers.pdf.

Адресуйте все вопросы, предложения, а также возможные рекламации:

Интернет: <https://www.tapotili.ru/>

Электронная почта: info@tapotili.ru

Моб. тел.: +7-903-786-4-789.

Ефремов Илья Алексеевич, кандидат биологических наук