

# GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit – PCR Setup – Treated Paper Substrate

Pub. No. 4481769 Rev. A Translated from English Publication Number 4480904 Rev. A

**Uwaga:** Informacje dotyczące bezpieczeństwa i zagrożenia biologicznego można znaleźć w części „Bezpieczeństwo” dokumentu *GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit User Guide* (Pub. no. 4477672). W przypadku substancji chemicznych należy się zapoznać z odpowiednimi kartami charakterystyk substancji niebezpiecznych (SDS) i postępować zgodnie z podanymi instrukcjami. Należy nosić odpowiednią odzież ochronną, okulary i rękawiczki.

■ Ogólne informacje o produkcie .....	1
■ Wymagania wstępne .....	1
■ Przygotowywanie próbek .....	1
■ Przygotowanie reakcji .....	2
■ Przeprowadzanie reakcji PCR i elektroforezy kapilarnej .....	3
■ Ograniczona gwarancja na produkt .....	3

## Ogólne informacje o produkcie

Zestaw GlobalFiler™ Express Kit (200 reakcji, Part no. 4476609 lub 1000 reakcji, Part no. 4474665) to analiza multipleksowa w sekwencji mikrosatelitarnej (STR) amplifikująca 21 autosomalnych loci STR, amelogeninę, 1 locus STR w chromosomie Y oraz 1 locus insercji/delecji w chromosomie Y (indel Y). Analiza jest zoptymalizowana pod kątem bezpośredniej amplifikacji następujących typów próbek pochodzących z pojedynczego źródła:

- Próbki krwi lub zawierające komórki nabłonka jamy ustnej pobrane na poddany obróbce papier (zgodnie z opisem w niniejszej skróconej instrukcji obsługi)
- Próbki krwi lub zawierające komórki nabłonka jamy ustnej pobrane na niepoddany obróbce papier, do których dodano bufor Prep-n-Go™ Buffer (zgodnie z opisem w skróconej instrukcji obsługi Pub. no. 4481778)
- Próbki zawierające komórki nabłonka jamy ustnej pobrane na wacik, do których dodano bufor Prep-n-Go™ Buffer (zgodnie z opisem w skróconej instrukcji obsługi Pub. no. 4481760)

## Wymagania wstępne

Przed rozpoczęciem należy umieścić niniejszy dokument w laboratorium, w miejscu, w którym przeprowadzane są procedury przygotowania reakcji PCR.

## Przygotowywanie próbek

- Nie dodawać wody do dołków w mikroplycie reakcyjnej przed dodaniem wykrojonych krążków. W przypadku problemów ze statycznością papierowych krążków można przygotować i odmierzyć 15 µl mieszaniny reakcyjnej do dołków mikroplastyki reakcyjnej przed dodaniem wykrojonych krążków.
- Krążki należy wykroić jak najbliżej środkowej części próbki, aby zapewnić optymalną intensywność szczytową. Zwiększenie rozmiaru wykrawanego krążka może spowodować zahamowanie amplifikacji podczas reakcji PCR.
- Wykrawanie ręczne: Umieścić końcówkę przyrządu do wykrawania Harris Micro-Punch o średnicy 1,2 mm na karcie, przytrzymać cylinder przyrządu do wykrawania Harris Micro-Punch (nie dotykać tłoczka), delikatnie nacisnąć i przekręcić o 1/4 obrotu, a następnie wysunąć krążek do odpowiedniego dołka w mikroplycie reakcyjnej.
- Wykrawanie automatyczne: Wskazówki na ten temat można znaleźć w instrukcji użytkownika automatycznego lub półautomatycznego przyrządu do wykrawania krążków.

## Przygotowanie reakcji

- Umieścić próbki w mikroplacie reakcyjnej:

Do tych dołków mikroplaty reakcyjnej 96-dołkowej MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate...	Dodać:	
Kontrola negatywna	pusty krążek o średnicy 1,2 mm	
Próbki badane	krążek o średnicy 1,2 mm z próbką	
Kontrola pozytywna <b>WAŻNE!</b> Nie umieszczać pustego krążka w dołku z kontrolą pozytywną.	<ul style="list-style-type: none"><li>W przypadku 25 i 26 cykli</li></ul>	3 µl odczynnika Control DNA 007
	<ul style="list-style-type: none"><li>W przypadku 27 cykli</li></ul>	2 µl odczynnika Control DNA 007
	<ul style="list-style-type: none"><li>W przypadku 28 cykli</li></ul>	1 µl odczynnika Control DNA 007

**Uwaga:** Objętości kontroli pozytywnej to ilości sugerowane, które można zmienić, jeżeli wartości szczytowe są zbyt niskie lub zbyt wysokie w odniesieniu do optymalnej liczby cykli.

- Obliczyć ilość poszczególnych składników wymaganą do przygotowania reakcji, posługując się poniższą tabelą.

Składnik reakcji	Objętość na reakcję
Master Mix	6,0 µl
Primer Set	6,0 µl
Low-TE Buffer	3,0 µl

**Uwaga:** W obliczeniach należy uwzględnić dodatkowe reakcje, aby zapewnić dodatkową ilość odczynników na wypadek strat podczas przenoszenia.

**WAŻNE!** Zestaw został zoptymalizowany pod kątem przeprowadzania reakcji PCR przy objętości składników równej 15 µl, co ma na celu uniknięcie skutków zahamowania reakcji PCR, spodziewanych w przypadku amplifikacji nieoczyszczonych próbek. Zastosowanie mniejszej objętości próbki podczas reakcji PCR może negatywnie wpłynąć na możliwość utworzenia pełnych profili STR przez odczynniki chemiczne zawarte w zestawie.

- Przygotować odczynniki. Rozmrozić bufor Master Mix i starter Primer Set, a następnie mieszać w wytrząsarce przez 3 sekundy, a przed otwarciem probówek lub butelek krótko odwirować.

**WAŻNE!** Rozmrożenie jest wymagane tylko przed pierwszym użyciem zestawu. Po pierwszym użyciu odczynniki są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C, dlatego nie ma potrzeby ich ponownego rozmrażania. Nie należy ponownie zamrażać odczynników.

- Przenieść pipetą wymaganą objętość składników do odpowiedniej probówki polipropylenowej.
- Mieszać mieszaninę reakcyjną w wytrząsarce przez 3 sekundy, a następnie krótko odwirować.
- Odmierzyć 15 µl mieszaniny reakcyjnej do poszczególnych dołków reakcyjnych mikroplaty reakcyjnej 96-dołkowej MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate.
- Zakleić płytkę folią MicroAmp® Clear Adhesive Film (Part no. 4306311) lub folią MicroAmp® Optical Adhesive Film (Part no. 4311971).

**WAŻNE!** Zaleca się zaklejanie płytki folią w celu zapewnienia jednakowego poziomu szczelności zamknięcia wszystkich dołków i uniknięcia parowania. Nie należy stosować zatyczek, ponieważ może to grozić różnicami w poziomie szczelności zamknięcia poszczególnych dołków.

**WAŻNE!** W przypadku stosowania termocyklera 9700 z blokiem srebrnym lub srebrnym powlekanym złotem umieścić na płytce nakładkę kompresyjną MicroAmp® Compression Pad (Part no. 4312639) w celu dodatkowego zabezpieczenia przed parowaniem w trakcie obróbki termicznej. Termocykler Veriti® Thermal Cycler nie wymaga stosowania nakładki kompresyjnej.

- Wirować płytkę z prędkością 3000 obr./min przez 20 sekund w wirówce laboratoryjnej z uchwytami na płytkę.

## Przeprowadzanie reakcji PCR i elektroforezy kapilarnej

Informacje na temat amplifikacji PCR i elektroforezy kapilarnej (Capillary Electrophoresis – CE): *GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit-PCR Amplification and CE Quick Reference Card* (Pub. no. 4481787) oraz *GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit User Guide* (Pub. no. 4477672).

### Ograniczona gwarancja na produkt

Firma Life Technologies Corporation i/lub jej spółki zależne udzielają gwarancji na produkty zgodnie z zapisami ogólnych warunków i postanowień dotyczących sprzedaży produktów firmy Life Technologies, które można znaleźć w witrynie internetowej firmy Life Technologies pod adresem [www.lifetechnologies.com/termsandconditions](http://www.lifetechnologies.com/termsandconditions). Wszelkie pytania należy kierować do firmy Life Technologies na adres [www.lifetechnologies.com/support](http://www.lifetechnologies.com/support).

#### Produkt przeznaczony wyłącznie do celów sądowych lub ustalania ojcostwa.

Informacje podane w niniejszej instrukcji mogą ulec zmianie bez powiadomienia.

ZRZECZENIE SIĘ ODPOWIEDZIALNOŚCI: FIRMA LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION I/LUB JEJ SPÓŁKI ZALEŻNE NIE UDZIELAJĄ ŻADNYCH GWARANCJI W ODNIESIENIU DO NINIEJSZEGO DOKUMENTU, WYRAŻNYCH ANI DOROZUMIANYCH, W TYM MIĘDZY INNYMI GWARANCJI W ZAKRESIE ZBYWALNOŚCI, PRZYSTOSOWANIA DO OKREŚLONEGO CELU ORAZ NIENARUSZALNOŚCI. W WYMIARZE OGRANICZONYM PRZEZ PRAWO, W ŻADNYM WYPADKU FIRMA LIFE TECHNOLOGIES I/LUB JEJ SPÓŁKI ZALEŻNE NIE BĘDĄ PONOSIŁY ODPOWIEDZIALNOŚCI, UMOWNEJ, DELIKTOWEJ, GWARANCYJNEJ ANI OPARTEJ NA ŻADNYCH INNYCH REGULACJACH LUB INNEJ PODSTAWIE, ZA WYMIERNE, UBOCZNE, POŚREDNIE, DOMNIEMANE, WIELOKROTNE BĄDŹ WYNIKOWE SZKODY POWSTAŁE W ZWIĄZKU Z NINIEJSZYM DOKUMENTEM, W TYM MIĘDZY INNYMI Z JEGO ZASTOSOWANIEM.

© 2012 Life Technologies Corporation. Wszelkie prawa zastrzeżone. Wymienione w niniejszym dokumencie znaki towarowe stanowią własność firmy Life Technologies Corporation lub odpowiednich właścicieli.

#### Headquarters

5791 Van Allen Way | Carlsbad, CA 92008 USA | Phone +1 760 603 7200 | Toll Free in USA 800 955 6288

For support visit [lifetechnologies.com/support](http://lifetechnologies.com/support)

[lifetechnologies.com](http://lifetechnologies.com)

October 2012

