



Дезактивация нуклеиновых кислот с технологией **DNA-ExitusPlus™**

Применение

Полная очистка оборудования и поверхностей от любых молекул нуклеиновых кислот важна для биологической защиты и безопасности, а также для предотвращения ложных результатов ПЦР-амплификации. DNA-ExitusPlus™ - безопасный раствор для дезактивации нуклеиновых кислот в молекулярно-биологической лаборатории. Каталитический и кооперативный эффект компонентов раствора вызывает очень быструю неферментную, неспецифическую (относительно последовательности) деградацию ДНК и РНК молекул.

Удаление ДНК - всё или ничего

Сравнивая DNA-ExitusPlus™ с обычными продуктами, мы можем продемонстрировать, что он быстро и эффективно разрушает нуклеиновые кислоты, не оказывая вредного или токсичного влияния на сотрудников лаборатории, оборудование и окружающую среду. Большинство дезактивирующих реагентов основаны на нескольких молекулярных принципах для уничтожения или инактивации генетического материала: модификация и денатурация может маскировать, но не разрушить генетическую информацию, закодированную в цепочке ДНК, и есть риск, что она может быть химически реактивирована. Таким образом, безопасность и полная дезактивация ДНК зависит от деградации ДНК на очень мелкие фрагменты. Рис. 1 показывает сравнение процесса фрагментации с использованием DNA-ExitusPlus™ с традиционными реагентами. Полная деградация была получена только с использованием DNA-ExitusPlus™, в то время как другие дезактивирующие продукты, которые полагались только на методологию модификации и денатурации, приводили к образованию лишь частично деградированных фрагментов ДНК, некоторые из которых содержали полную генетическую информацию.



Ключевые слова

- Дезактивация (деконтаминация) нуклеиновых кислот
- тест деградации ДНК
- ПЦР, количественная ПЦР

Неспецифическая деградация цепочек ДНК

Только запатентованное средство DNA-ExitusPlus™ обеспечивает быструю и эффективную деградацию нуклеиновых кислот, потому что его метод действия основан на химической, а не ферментативной активности. Следовательно, его влияние на фрагментацию совершенно не зависит от последовательности и размера фрагментов ДНК. Более крупные плазмиды требуют более продолжительной инкубации, чем мелкие (например, праймеры). Но в итоге разрушены будут все виды фрагментов.

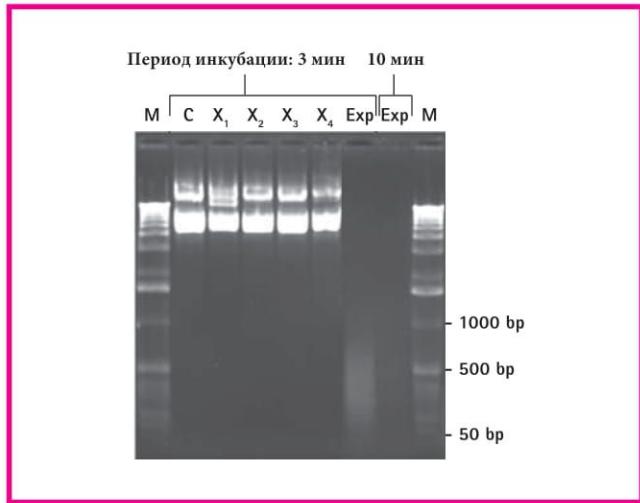


Рисунок 1. Сравнение деградации ДНК под действием DNA-ExitusPlus™ и обычные средства для дезактивации ДНК. В каждом случае 200 нг CCC плазмидной ДНК были обработаны 5 мкл указанного реагента в течение 3 или 10 минут соответственно. М = маркер молекулярного веса, С = контроль (обработан водой), X1, X2, X3, X4 = другие продукты, Exp = DNA-ExitusPlus™

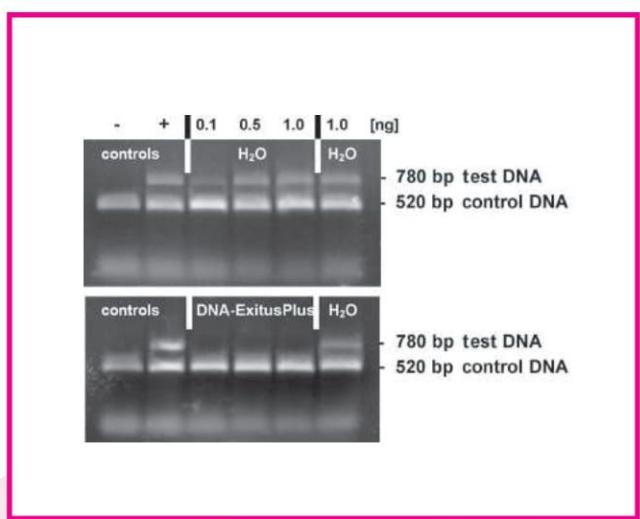


Рисунок 2. Полное удаление ДНК-загрязнений с помощью DNA ExitusPlus™, выявленное с помощью ПЦР. Эксперимент: Тестируемую DNA (от 0.1 до 1 нг) лиофилизовали на внутренней поверхности пробирки ПЦР, инкубировали в течение 20 сек в стерильной воде или DNA-ExitusPlus™, дважды промыли 100 мкл стерильной воды. Для ПЦР-теста использовали по 50 мкл реакционных смесей, содержащих подходящие праймеры для амплификации контрольной и тестовой последовательностей ДНК. Контрольная ДНК (1 нг) в каждом образце доказывает, что ПЦР не ингибируется. Результаты: Амплификация ДНК полосы, соответствующей тестовой ДНК, указывает на то, что присутствуют интактные молекулы ДНК. И наоборот, если нет никакой амплификации ДНК полос, это указывает на полную деградацию тестовой ДНК. Отрицательный контроль в стерильной воде показывают ДНК полосы тестового и контрольного образцов, в то время как после обработки DNA-ExitusPlus™ амплифицируется только фрагмент контрольной ДНК.

Чувствительный ПЦР-анализ (рис. 2) показывает, что после обработки DNA-ExitusPlus™ отсутствуют амплифицируемые фрагменты ДНК, что подтверждает высокоэффективную деградацию молекул ДНК. В данном эксперименте определяемые образцы ДНК были высушены на внутренней поверхности реакционных пробирок и впоследствии обработаны DNA-ExitusPlus™. Только положительные контрольные образцы и вода, содержащая контрольный образец, выявили амплификацию тестовой ДНК, в то время как образцы, обработанные DNA-ExitusPlus™, не показали амплифицированных последовательностей.

Опрывывание лабораторной поверхности раствором DNA-ExitusPlus™ обеспечит полную дезактивацию нуклеиновых кислот. Время реакции для DNA-ExitusPlus™ соответствует времени высушивания (10-20 минут).

Нежелательные побочные эффекты обычных реагентов: коррозия

Большинство обычных средств для дезактивации ДНК содержат агрессивные, токсичные химические вещества. Используются такие ингредиенты, как азиды, минеральные кислоты, например, фосфорная или соляная кислота, агрессивные перекиси или сильные щелочи, такие как гидроксид натрия. Такие вещества могут необратимо повреждать металлические поверхности даже после короткого инкубационного периода. В противоположность этому DNA-ExitusPlus™ не вызывает коррозии металлов. (Рис. 3)

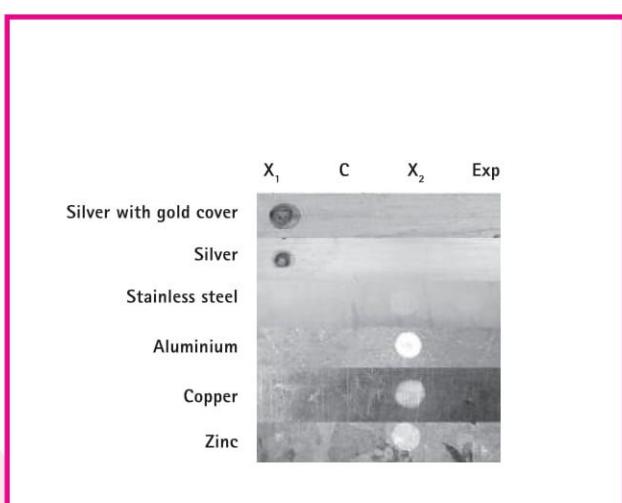


Рисунок 3. DNA-ExitusPlus™ не вызывает коррозии по сравнению с обычными средствами деконтаминации ДНК. Металлические пластины, представляющие типичные лабораторные материалы и оборудование, обработали 10 мкл каждого из показанных реагентов в течение 20 мин. Коррозия отсутствует при использовании DNA-ExitusPlus™ (в некоторых случаях наблюдается эффект полирования путем удаления грязи или оксидных слоев). С = вода, Exp = DNA-ExitusPlus™, X1, X2 = другие промышленно-доступные продукты

Автоклавирование не полностью разрушает нуклеиновые кислоты

Наконец, автоклавирование, как полагают, является эффективным методом деконтаминации ДНК, хотя он предназначен только для термостойких материалов и оборудования, которые можно поместить в автоклав. Как полагают, в стандартных условиях автоклавирования молекулы ДНК распадаются на очень мелкие осколки. Но ПЦР-анализ демонстрирует, что даже после автоклавирования идентифицируются крупные фрагменты ДНК [1], особенно когда нуклеиновые кислоты защищены белковыми оболочками (например, у вирусов) или клеточными стенками микроорганизмов (например, у бактерий).

Поэтому, для использования в качестве добавки в целях обеззараживания жидких отходов, на основе порошковой смеси ExitusPlus™ был разработан

Autoclave-ExitusPlus™. Благодаря своему химическому составу, Autoclave-ExitusPlus™ (как это справедливо для всех других реагентов ExitusPlus™) не чувствителен к нагреванию и не содержит летучих и вредных ингредиентов. Рисунок 4 показывает влияние Autoclave-ExitusPlus™ на бактериальные культуры и нуклеиновые кислоты после автоклавирования. Только при добавлении Autoclave-ExitusPlus™ достигается полная деградация бактериальной ДНК, в то время как при стандартных условиях, то есть автоклавировании в водном растворе или питательной среде, всегда остается неразрушенная и частично деградированная ДНК.

Таким образом, автоклавирование, как метод избавления от ДНК микроорганизмов, должно быть пересмотрено. Последние данные показывают, что простым автоклавированием нуклеиновые кислоты вирусов и бактерий не инактивируются должным образом.)

Выводы

Только ПЦР-анализ в сочетании с тестом на деградацию ДНК показывает истинный дезактивационный потенциал реагента, т.к. позволяет избежать ложных результатов при маскировке и модификации материала нуклеиновых кислот.

Растворы DNA-ExitusPlus™, содержащие в составе мягкую, неагрессивную химию, приводят к быстрой неферментативной деградации нуклеиновых кислот. Даже короткие периоды инкубации с DNA-ExitusPlus™ позволяют полностью удалить нежелательные ДНК и РНК с рабочих поверхностей и инструментов.

Ссылки на литературу

- [1] Elhafi, G. et al. (2004) Воздействие микроволнового излучения и автоклавирование разрушает the infectivity of вируса инфекционного бронхита кур и avian pneumovirus but allow detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Avian Pathology 33, 3003-306.

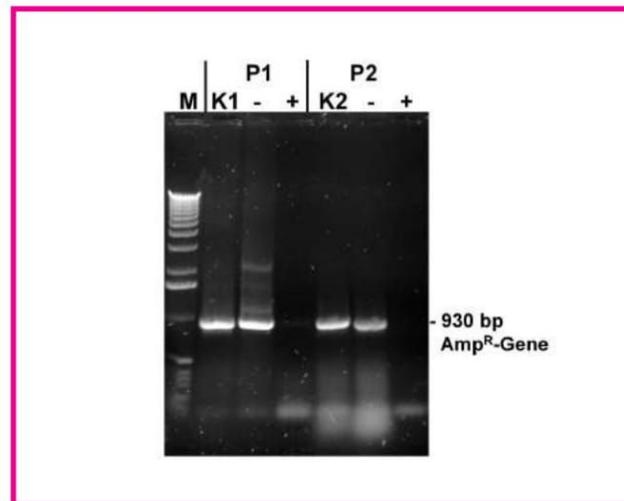


Рисунок 4. ПЦР-анализ двух культур *E. coli*, после автоклавирования с или без Autoclave-ExitusPlus™. Две рекомбинантные культуры *E. coli* (P1 и P2), содержащие плазмиду с геном резистентности к ампциллину (AmpR-ген), были автоклавированы. Аликвоты (2 мкл) автоклавированных культур были проанализированы методом ПЦР на присутствие полного AmpR гена. (M) маркер молекулярного веса, (-) = *E. coli* с водой, (+) *E. coli* с Autoclave-ExitusPlus™, (K1 и K2) = контроли ПЦР амплификации: *E. coli* с Autoclave-ExitusPlus™ плюс 2 нг образца AmpR gene



IP-020EN;201901

Исключительные характеристики DNA-ExitusPlus™

- Каталитические и кооперативные эффекты вызывают очень быструю неферментативную, неспецифическую в отношении последовательности деградацию молекул ДНК и РНК.
- Все компоненты DNA-ExitusPlus™ легко биоразлагаемы и не являются вредными или токсичными для человека.
- Растворы не содержат агрессивных минеральных кислот или щелочных веществ. Оборудование и материалы не повреждаются и не подвергаются коррозии даже после продолжительного времени инкубации.

Доступные продукты

Наименование	Артикул	Упаковка
Autoclave-ExitusPlus™	A7600,1000	Порошок д/обработки 6 х 1 л среды или клеточной культуры
DNA-ExitusPlus™	A7089,0100	100 мл
	A7089,0500	500 мл
	A7089,1000RF	1 л
	A7089,2500RF	2.5 л
DNA-ExitusPlus™ IF	A7409,0100	100 мл
	A7409,0500	500 мл
	A7409,1000RF	1 л
	A7409,2500RF	2.5 л

Примечание: DNA-ExitusPlus™ содержит индикатор светло-желтоватого цвета. Как правило, DNA-ExitusPlus™ поставляется в бутылках с распылителем.

IF = версия без индикатора ("Indicator-Free")

RF = Запасная упаковка без дозатора/распылителя



IP-020EN

AppliChem GmbH
Ottoweg 4
DE-64291 Darmstadt
Germany
Phone +49 6151 9357 0
Fax +49 6151 9357 11
info.de@itwreagents.com

Nova Chimica Srl
Via G. Galilei, 47
I-20092 Cinisello Balsamo
(Milano) Italy
Phone +39 02 66045392
Fax +39 02 66045394
info.it@itwreagents.com

PanReac Química SLU
C/ Garraf 2, Polígono Pla de la
Bruguera
E-08211 Castellar del Vallès
(Barcelona) Spain
Phone +34 937 489 400
Fax +34 937 489 401
info.es@itwreagents.com


www.itwreagents.com