

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ реагентов для выделения нуклеиновых кислот «АртДНК экспресс»

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения нуклеиновых кислот «АртДНК экспресс» предназначены для экстракции ДНК из тканей животных и человека (в том числе всех видов клинического материала), растительного сырья, продуктов питания, биологических добавок, кормов и др. биологических образцов с целью проведения последующих молекулярно-биологических исследований методами ПЦР и ПЦР-РВ.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртДНК экспресс» рассчитаны на проведение 100 выделений (таблица 1).

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртДНК экспресс»

Компонент	Объем, не менее
Экспресс реагент	2,0 мл

ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Метод выделения ДНК реагентами «АртДНК экспресс» основан на сорбции ингибиторов ПЦР Экспресс реагентом, что позволяет быстро получать ДНК, пригодную для постановки ПЦР.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный или ПЦР-бокс;
- твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
- вортекс;
- набор дозаторов переменного объема;
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5 – 2,0 мл;
- штативы для пробирок и наконечников;
- холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от -24 °С до -16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников;
- комплект средств для обработки рабочего места;

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Жидкие образцы (кровь, плазма, сыворотка) используются без дополнительных манипуляций. Не допускается использование образцов, содержащих гепарин.

Из проб тканей, органов, продуктов питания и др. твердых образцов с использованием ручного или автоматического гомогенизатора готовят 10 % суспензию на физиологическом растворе либо фосфатно-солевом буфере. Полученный экстракт центрифугируют при 10 000 об/мин в течение 1 мин. Супернатант используют для дальнейшего выделения ДНК. Допускается хранение полученного экстракта в течение 3 месяцев при температуре не выше -16 °С (при необходимости повторного анализа). После размораживания необходимо повторить процедуру центрифугирования.

ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК

0. Перед использованием Экспресс реагент необходимо ресуспендировать. В случае формирования осадка Экспресс реагента при его раскапывании по пробиркам, ресуспендирование необходимо повторить.

I. В каждую пробирку объемом 1,5 или 2 мл внести по 20 мкл Экспресс реагента и по 5 мкл экзогенного внутреннего контроля (ВКО) при его использовании.

II. В пробирки, содержащие Экспресс реагент, отдельными наконечниками с фильтрами внести по 25 мкл исследуемых образцов (см. подготовка исследуемого материала к экстракции). При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 25 мкл отрицательного

контрольного образца (ОКО); в пробирку ПКЭ (положительный контроль экстракции) внести 25 мкл положительного контрольного образца (ПКО).

III. Пробы перемешать на вортексе и инкубировать при температуре 95 °С в течение 5 мин при постоянном интенсивном перемешивании.

IV. Осадить Экспресс реагент при 10 000 об/мин в течение 5 мин. Надосадочная жидкость содержит ДНК, готовую для постановки ПЦР. Для длительного хранения образцов рекомендуется перенести супернатант в новые пробирки.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртДНК экспресс» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре +25 – +37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртДНК экспресс» транспортируются любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртДНК экспресс» хранятся в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности «АртДНК экспресс» – 12 месяцев с даты изготовления.