

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ реагентов для выделения ДНК «АртДНК экспресс»

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения ДНК «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

Комплектация реагентов «АртДНК экспресс» рассчитана на проведение 50 выделений и указана в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртДНК экспресс»

Компонент	Объем, не менее
1. Экспресс реагент	1 пробирка – 1,5 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 дистиллированной/деионизованной воде. 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 25 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 осуществляется при температуре окружающей среды, но не выше +37°С (до 5 суток) или при температуре +2 – +8 °С. Допускается транспортировка любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты хранят в упаковке изготовителя при температуре от +2 °С до +8°С.

Срок годности реагентов для очистки ДНК «АртДНК экспресс» – 12 месяцев с даты изготовления.