

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ Реагентов для очистки ДНК «АртДНК легкий»

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для очистки ДНК «АртДНК легкий» предназначены для экстракции ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, а также из биологических жидкостей (мочи, секрета предстательной железы, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ) и проб из ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР и ПЦР-РВ.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртДНК легкий» позволяют эффективно выделять ДНК из широкого спектра клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Метод экстракции ДНК с использованием реагентов «АртДНК легкий» отличается простотой, удобством и не требует дополнительных реактивов. Выделение одного образца занимает до 20 мин.

Комплектации реагентов для очистки ДНК «АртДНК легкий» указаны в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртДНК легкий»

Компонент	Объем, не менее	
	на 50 выделений	на 100 выделений
1. ДНК-сорбент	1,5 мл	3,0 мл
2. Сорбирующий раствор	20 мл	40 мл
3. Промывочный раствор	50 мл	100 мл
4. Элюирующий раствор	15 мл	15 мл
5. ВКО*	0,55 мл	1,1 мл

* Комплектуется в случае использования тест-систем серии «АртТест».

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод очистки ДНК реагентами «АртДНК легкий» основан на связывании ДНК с силикатными сорбентами с ее последующей элюцией, что позволяет получать ДНК высокой степени чистоты, пригодную для постановки ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртДНК легкий» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

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 минус 24 °С до минус 16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников;
- комплект средств для обработки рабочего места.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

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

Образцы мочи, БАЛ, мокроты и проб из ОСОЧ требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК

Установить температуру на термостате 65 °С.

I. В каждую пробирку внести по **400 мкл Сорбирующего раствора**, по **10 мкл ВКО** (при его использовании) и по **30 мкл ДНК сорбента**, тщательно перемешанного на вортексе.

II. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. Подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Элюирующего раствора.

III. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 минут** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом перемешивании. После окончания инкубирования содержимое повторно перемешать на вортексе и оставить на **2 мин** при **комнатной температуре**.

IV. Осадить ДНК-сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин**.

V. Не захватывая сорбент аккуратно **удалить надосадочную жидкость**.

VI. Внести в пробирки с сорбентом по **1 мл Промывочного раствора** и перемешать на вортексе.

VII. Осадить ДНК-сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин**.

VIII. Не захватывая сорбент аккуратно **удалить надосадочную жидкость**.

IX. Инкубировать пробирки с открытыми крышками в термостате в течение **5 мин** при температуре **65 °С** для подсушивания ДНК-сорбента.

X. Добавить в пробирки по **50 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе. *При необходимости, допускается увеличение объема Элюирующего раствора до 150 мкл.*

XI. Инкубировать пробы в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом перемешивании.

XII. Центрифугировать пробирки в течение **1 мин** при **12 000 об/мин**. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК, готовую для постановки ПЦР.

XIII. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

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

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

Срок годности комплекта реагентов «АртДНК легкий» – 12 месяцев с даты изготовления.