ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагентов для очистки ДНК «АртДНК легкий» (кат. № VLM)

НАЗНАЧЕНИЕ РЕАГЕНТОВ «АртДНК легкий»

Реагенты для очистки ДНК «АртДНК легкий» 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, в том числе методами ПЦР и ПЦР-РВ.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТОВ «АртДНК легкий»

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

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртДНК легкий»

Состав	Комплектация
1. ДНК-сорбент	1 пробирка – 1,5±0,05 мл
2. Сорбирующий раствор	1 флакон – 35±1 мл
3. Промывочный раствор	1 флакон – 50±1 мл
4. Элюирующий раствор	1 флакон – 4±0,1 мл

ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Метод выделения ДНК реагентами **«АртДНК легкий»** основан на связывании ДНК с силикатными сорбентами с ее последующей элюцией, что позволяет получать ДНК высокой степени чистоты, свободную от ингибиторов ПЦР.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

ЗОНА 1 – Для экстракции ДНК из исследуемого материала:

- 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 10 000 об/мин;
- вортекс для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл;
- отдельный набор дозаторов переменного объема (от 10 до 1000 мкл);
- одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл;
- одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 и/или 2 мл;
- штативы для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл 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 действующими правилами и инструкциями.

Для подготовки проб необходимо использовать одноразовые полипропиленовые пробирки, фламбированные инструменты – пинцеты, скальпели, ножницы.

- 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 или физиологическом растворе.

ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК

I. В каждую пробирку внести по 400 мкл Сорбирующего раствора и по 10 мкл экзогенного внутреннего контроля – ВКО (при его использовании).

II. В пробирки с Сорбирующим раствором внести по 100 мкл образца (см. Подготовка исследуемого материала). При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Элюирующего раствора; в пробирку ПКЭ (положительный контроль экстракции) внести 100 мкл положительного контрольного образца (ПКО).

III. Пробы перемешать на вортексе и инкубировать в штативе в течение 2 мин при периодическом (2 раза) перемешивании.

IV. В случае мутности образца или образования осадка центрифугировать пробы при 10 000 об/мин в течение 5 минут. Полученный супернатант перенести в новую пробирку объемом 1,5 или 2 мл.

V. В каждую пробирку с пробами внести по 30 мкл щательно перемешанного на вортексе ДНК-сорбента. Пробы перемешать на вортексе и инкубировать в штативе в течение 2 мин при периодическом (2 раза) перемешивании.

VI. Осадить ДНК-сорбент при 10 000 об/мин в течение 30 сек. Удалить надосадочную жидкость. В каждый образец внести по 300 мкл Сорбирующего раствора и тщательно перемешать на вортексе.

VII. Осадить ДНК-сорбент при 10 000 об/мин в течение 30 сек. Удалить надосадочную жидкость. В каждый образец внести по 500 мкл Промывочного раствора и тщательно перемешать на вортексе.

VIII. Осадить ДНК-сорбент при 10 000 об/мин в течение 30 сек. Удалить надосадочную жидкость. В каждый образец внести по 500 мкл Промывочного раствора и тщательно перемешать на вортексе.

IX. Осадить ДНК-сорбент при 10 000 об/мин в течение 1 мин. Удалить надосадочную жидкость. Поместить пробирки с сорбентом с открытыми крышками в термостат при температуре 65 °С на 5 мин для подсушивания ДНК-сорбента.

X. Внести в каждый образец по 50 мкл Элюирующего раствора, перемешать на вортексе. Инкубировать при температуре 65 °С в течение 5 мин.

XI. Осадить ДНК-сорбент при 10 000 об/мин в течение 1 мин. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК, готовую для постановки ПЦР.

XII. Для хранения образцов рекомендуется перенести супернатант в новые пробирки. Допускается хранение образца при температуре не выше 4 °С в течение суток, при температуре не выше минус 16 °С в течение 3 месяцев, при температуре не выше минус 68 °С в течение 1 года.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ «АртДНК легкий»

Транспортировка реагентов **«АртДНК легкий»** осуществляется при температуре +2 – +8 ºС в течение не более 30 суток или при температуре окружающей среды (но не более 30 ºС) в течение трех суток. Реагенты для очистки ДНК **«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 – +8 ºС. Допускается хранение всех компонентов набора при комнатной температуре в течение всего срока годности.

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