

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагентов для очистки ДНК «АртДНК MiniSpin» на колонках (кат. № VDMSM)

НАЗНАЧЕНИЕ РЕАГЕНТОВ «АртДНК MiniSpin»

Реагенты для очистки ДНК «АртДНК MiniSpin» являются универсальным набором для выделения ДНК и применимы 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 использованием Mini Spin колонок. Выделенная ДНК пригодна для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР) в различных модификациях.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТОВ «АртДНК MiniSpin»

Комплектация реагентов «АртДНК MiniSpin» рассчитана на проведение 50 выделений ДНК, включая контроли, и указана в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртДНК MiniSpin»

Состав	Комплектация
1. Mini Spin колонки	50 шт.
2. Лизирующий раствор	1 пробирка – 0,6±0,05 мл
3. Сорбирующий раствор	1 флакон – 35±1 мл
4. Промывочный раствор	1 флакон – 50±1 мл
5. Элюирующий раствор	1 флакон – 4±0,1 мл

ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Метод выделения ДНК реагентами «АртДНК MiniSpin» основан на принципе связывания ДНК с силикатными сорбентами в присутствии хаотропных солей и последующей элюцией ДНК в низкосолевого буфера. Для улучшения лизирования образцов в состав набора входит Лизирующий раствор, содержащий протеиназу К.

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 пробирки объемом 1,5 и/или 2 мл с завинчивающимися или плотно закрывающимися крышками;
 - 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 существующими правилами 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 или физиологическом растворе.

ОЧИСТКА ДНК

I. В каждую пробирку внести по 400 мкл Сорбирующего раствора и по 12 мкл Лизирующего раствора. В случае, если для последующей амплификации предусмотрен экзогенный внутренний контроль (ВКО), то его вносят в соответствии с рекомендациями фирмы-изготовителя набора, но не более 10 мкл.

II. В каждую пробирку с Сорбирующим и Лизирующим раствором внести по 100 мкл образца. 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 поместить в термостат, предварительно разогретый до 65 °С, на 1 час. В зависимости от специфики пробы допускается изменение временного интервала инкубации от 1 мин до 3 часов. Для улучшения экстракции ДНК рекомендуется термостатирование при непрерывном перемешивании.

IV. В случае мутности образца или образования осадка центрифугировать пробы при 10 000 об/мин в течение 5 минут.

V. Супернатант внести в Mini Spin колонку. Центрифугировать при 10 000 об/мин в течение 30 сек. «Проскок» удалить.

VI. В колонку внести 300 мкл Сорбирующего раствора. Центрифугировать при 10 000 об/мин в течение 30 сек. «Проскок» удалить.

VII. В колонку внести 500 мкл Промывочного раствора. Центрифугировать при 10 000 об/мин в течение 30 сек. «Проскок» удалить.

VIII. Повторить п. VII.

IX. Центрифугировать при максимальных скоростях (но не более 16 000 об/мин) в течение 3 мин с закрытой крышкой.

X. Колонку перенести в чистую пробирку объемом 1,5 или 2 мл. На поверхность мембраны аккуратно нанести 15–100 мкл Элюирующего раствора (увеличение объема Элюирующего раствора приводит к повышению суммарного выхода ДНК, но снижению ее концентрации в конечном образце), инкубировать 1–3 мин. Для наибольшего выхода ДНК рекомендуется предварительно подогреть Элюирующий раствор до температуры 60–65 °С.

XI. Центрифугировать при максимальных скоростях (но не более 16 000 об/мин) в течение 1 мин. Удалить колонку.

XII. «Проскок» содержит очищенную ДНК.

Допускается хранение полученного образца ДНК 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 MiniSpin»

Транспортировка реагентов «АртДНК MiniSpin» осуществляется при температуре +2 – +8 °С в течение не более 30 суток или при температуре окружающей среды (но не более 30 °С) в течение трех суток. Реагенты для очистки ДНК «АртДНК MiniSpin» транспортируют любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртДНК MiniSpin» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +8 °С. Допускается хранение всех компонентов набора, кроме Лизирующего раствора, при комнатной температуре в течение всего срока годности.

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