

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагентов для очистки РНК/ДНК «АртРНК Магнит» (кат. № NMM)

НАЗНАЧЕНИЕ РЕАГЕНТОВ «АртРНК Магнит»

Реагенты для очистки РНК/ДНК «АртРНК Магнит» предназначены для экстракции тотальной РНК и ДНК из образцов клинического материала при помощи магнитных частиц. Преимуществами данного метода выделения является его эффективность, относительная простота и быстрота проведения процедуры. РНК/ДНК, выделенная с помощью реагентов «АртРНК Магнит», пригодна для использования в реакции обратной транскрипции, ОТ-ПЦР, ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТОВ «АртРНК Магнит»

Комплектация реагентов «АртРНК Магнит» рассчитана на проведение 50 выделений и указана в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртРНК Магнит»

Состав	Комплектация
1. Магнитный сорбент	1 пробирка – 1,5±0,05 мл
2. Сорбирующий раствор	1 флакон – 40±1 мл
3. Промывочный раствор	1 флакон – 50±1 мл
4. Элюирующий раствор	1 флакон – 4±0,1 мл

ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

Метод выделения РНК/ДНК реагентами «АртРНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с силикатным покрытием магнитных частиц с их последующей отмывкой и элюцией, что позволяет получать РНК/ДНК высокой степени чистоты, пригодную для проведения молекулярно-биологических исследований.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ЗОНА 1 – Для экстракции РНК/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;
 - магнитный штатив для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл;
 - 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.

При работе с РНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

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. Полученный экстракт центрифугируют при 10 000 об/мин в течение 1 мин. Супернатант используют для дальнейшего выделения РНК/ДНК. Допускается хранение полученного экстракта в течение 3 месяцев при температуре не выше минус 16 °С (при необходимости повторного анализа). После размораживания необходимо повторить процедуру центрифугирования.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК

0. В случае выпадения осадка прогреть Сорбирующий раствор при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

I. В каждую пробирку объемом 1,5 или 2 мл внести по 300 мкл Сорбирующего раствора, по 30 мкл тщательно перемешанного на вортексе Магнитного сорбента и по 10 мкл ВКО (при его использовании).

II. В пробирки с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом отдельными наконечниками с фильтрами внести образцы объемом 100 мкл (см. подготовка исследуемого материала). При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Элюирующего раствора; в пробирку положительного контроля экстракции (ПКЭ) внести 100 мкл положительного контрольного образца (ПКО).

III. Пробы перемешать на вортексе и инкубировать в течение 10 мин при температуре 65 °С и постоянном (рекомендуемо) или периодическом перемешивании.

IV. Для сбора Магнитного сорбента перенести пробирки в магнитный штатив. Удалить надосадочную жидкость. В каждый образец внести по 500 мкл Сорбирующего раствора и тщательно перемешать на вортексе.

V. Перенести пробирки в магнитный штатив. Удалить надосадочную жидкость. В каждый образец внести по 500 мкл Промывочного раствора и тщательно перемешать на вортексе.

VI. Перенести пробирки в магнитный штатив. Удалить надосадочную жидкость. В каждый образец внести по 500 мкл Промывочного раствора и тщательно перемешать на вортексе.

VII. Перенести пробирки в магнитный штатив. Удалить надосадочную жидкость. Поместить пробирки с Магнитным сорбентом с открытыми крышками в термостат при температуре 65 °С на 5 мин для его подсушивания.

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

IX. Перенести пробирки в магнитный штатив. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для дальнейших молекулярно-биологических исследований.

X. 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 «АртРНК Магнит»

Транспортировка реагентов для очистки РНК/ДНК «АртРНК Магнит» 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 «АртРНК Магнит» транспортируют любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртРНК Магнит» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +8 °С. Допускается хранение всех компонентов набора при комнатной температуре в течение всего срока годности.

Срок годности реагентов для очистки РНК/ДНК «АртРНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.