

Набор реагентов для выделения ДНК (на магнитных частицах)
«М-Сорб»

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



СОДЕРЖАНИЕ

1.	НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
1.1.	Назначение набора	3
1.2.	Описание моделей «M-Corб-50», «M-Corб-100».....	3
1.3.	Область применения	3
1.4.	Потенциальные пользователи.....	3
1.5.	Принцип метода, положенный в основу работы набора	3
2.	ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.....	5
2.1.	Состав набора	5
2.2.	Функциональные характеристики	5
3.	УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ, СРОК ГОДНОСТИ НАБОРА	5
4.	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ.....	5
5.	ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА	6
6.	СТАНДАРТНЫЙ ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК	7
6.1.	Лизис	7
6.2.	Связывание геномной ДНК с магнитными частицами	7
6.3.	Отмывка связанной ДНК.....	7
6.4.	Десорбция	8
7.	ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ПРОТОКОЛЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК.....	8
7.1.	Выделение ДНК из биологических образцов, адсорбированных на предмете-носителе. 8	
7.2.	Выделение ДНК из навески ткани.....	9
7.3.	Выделение ДНК из буккальных клеток.....	9
7.4.	Выделение ДНК из суспензии клеток.....	10
7.5.	Выделение ДНК из волос	11
7.6.	Выделение ДНК из ногтей	12
7.7.	Выделение ДНК из жевательной резинки, сигаретного окурка	12
7.8.	Выделение ДНК из тканей, фиксированных парафином	13
7.9.	Выделение ДНК из образцов с увеличенным объемом.....	15
8.	ИНФОРМАЦИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ.....	16
9.	ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	16
10.	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА.....	16

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Назначение набора

Набор реагентов «М-Сорб» предназначен для выделения геномной ДНК на магнитном сорбенте из следующих типов исследуемого материала:

- жидкая цельная кровь, физиологические жидкости (сперма, слюна),
- биологические образцы, адсорбированные на предмете-носителе (кровь на картах или на тканевом носителе; слюна, сперма на тканевом носителе; клетки на клейкой ленте),
- тканевой материал (фрагменты органов, тканей),
- тканевой материал, фиксированный парафином,
- буккальный эпителий, мазки на специализированных зондах,
- суспензия клеток,
- волосы,
- ногти,
- жевательная резинка,
- сигаретный окурок.

1.2. Описание моделей «М-Сорб-50», «М-Сорб-100»

Модели набора «М-Сорб-50» (кат. № HG-501-50) и «М-Сорб-100» (кат. № HG-501-100) предназначены для выделения ДНК ручным методом с использованием магнитного штатива и рассчитаны на проведение 50 и 100 экстракций ДНК соответственно.

Примечание – При использовании протокола выделения ДНК из тканей, фиксированных парафином, и протокола выделения ДНК из образцов с увеличенным объемом: реагентов, входящих в состав модели «М-Сорб-50», хватает на 33 экстракции ДНК; реагентов, входящих в состав модели «М-Сорб-100» хватает на 66 экстракций ДНК.

1.3. Область применения

Набор может быть использован в молекулярно-генетических лабораториях, занимающихся выделением и дальнейшим анализом геномной ДНК (в том числе в лабораториях, проводящих судебно-медицинскую экспертизу), а также в научно-исследовательских лабораториях и учреждениях.

1.4. Потенциальные пользователи

К работе с набором допускаются специалисты с высшим или средним медицинским, биологическим или ветеринарным образованием, получившие дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики. Персонал должен иметь навыки работы с биохимическими реактивами и современным лабораторным оборудованием.

1.5. Принцип метода, положенный в основу работы набора

Принцип метода, положенный в основу работы изделия, – лизирование объекта исследования в лизирующем растворе; связывание нуклеиновой кислоты с ДНК-связывающим агентом, покрывающим магнитные частицы; отмывка магнитных частиц и элюирование выделенного продукта в элюирующий раствор.

В основе магнитных частиц – оксид железа, на поверхность которого нанесено кремнеземное покрытие. Нуклеиновые кислоты связываются с кремнеземным покрытием в присутствии гуанидина тиоцианата. Он нарушает целостность молекулы ДНК, что приводит к потере гидрофобности и связыванию нуклеиновых кислот. Магнитные частицы с нуклеиновыми кислотами на поверхности отделяются от клеточного лизата путем создания магнитного поля внешним магнитом. После промывки и инкубации при 70 °С нуклеиновые кислоты отделяются от магнитных частиц, переходят в элюирующий раствор и могут быть использованы в дальнейших исследованиях.

Эффективность выделения ДНК с помощью набора реагентов «М-Сорб» зависит от количества, качества и типа исходного материала. Оптимальное количество для внесения зависит от типа, срока хранения и поверхности носителя биологического образца.

Примеры соответствующих типов образцов и их максимального количества, взятого для выделения ДНК с использованием набора реагентов «М-Сорб», приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Максимальное количество исследуемого образца для выделения ДНК с помощью набора реагентов «М-Сорб»

Тип образца	Максимальное количество образца
Жидкая цельная кровь, сперма	до 10 мкл
Слюна	до 100 мкл
Кровь (на картах или на тканевом носителе)	до 25 мм ²
Слюна, сперма на тканевом носителе	до 25 мм ²
Клетки на клейкой ленте	до 2 мм ²
Навеска ткани	20 мг
Ткань, фиксированная парафином	2-3 среза
Буккальный эпителий, мазки на специализированных зондах	не более 1 зонда
Суспензия клеток (10 ⁶)	400 мкл
Волосы	10 луковиц длиной не более 3–5 мм
Ногти	3 ногтевые пластины длиной не более 3–5 мм
Жевательная резинка	Не более 1/8 части
Сигаретный окурок	5 мм сигаретной бумаги от края фильтра

Приблизительный количественный выход ДНК из 10 мкл незамороженной жидкой крови составляет 2 нг/мкл (при элюции в 100 мкл).

В каждой лаборатории должно быть проведено самостоятельное независимое исследование для определения количественного выхода ДНК.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Состав набора

Таблица 2 – Состав моделей «М-Сорб-50», «М-Сорб-100»

№	Компонент	Номинальный объем, мл	Количество	
			М-Сорб-50	М-Сорб-100
1.	Лизирующий раствор	20	1 флакон	2 флакона
2.	Сорбирующий раствор	1	1 пробирка	2 пробирки
3.	Осаждающий раствор	10	1 флакон	2 флакона
4.	Промывочный раствор	50	1 флакон	2 флакона
5.	Элюирующий раствор	1,25	4 пробирки	8 пробирок

2.2. Функциональные характеристики

Эффективность выделения ДНК человека 2,5 и 25 нг/образец составляет не менее 50 %. Набор обеспечивает чистоту выделения ДНК менее 0,002 нг/мкл ДНК человека.

3. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ, СРОК ГОДНОСТИ НАБОРА

Хранение: при температуре от 2 °С до 25 °С в защищенном от света месте.

ВАЖНО! Пробирку с Сорбирующим раствором не замораживать.

Транспортирование: крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным, воздушным) при температуре от 2 °С до 25 °С.

Эксплуатация: Исследование образцов с использованием набора должно проводиться при температуре от 15 °С до 35 °С и относительной влажности воздуха от 15 % до 75 %. Набор должен применяться в соответствии с действующей версией инструкции по применению. Набор предназначен для одноразового применения для проведения исследования указанного количества проб (см. п. 1.2). Набор реагентов готов к применению согласно инструкции.

Срок годности набора: 14 месяцев с даты выпуска предприятием-изготовителем при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения. Срок годности реагентов до и после вскрытия соответствует сроку годности набора.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

Работа с набором должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований МУ 1.3.2569-09, СанПиН 3.3686-21, СанПиН 2.1.3684-21.

К работе с набором допускается только квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в лаборатории в соответствии с СанПиН 3.3686-21. Необходимо одновременное обеспечение и соблюдение персоналом правил биологической безопасности и требований к организации и проведению исследования материала методом ПЦР с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами исследуемых проб, помещений и оборудования.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- применять набор реагентов строго по назначению;
- рассматривать исходные исследуемые образцы биологического материала как потенциально инфекционно-опасные;
- удалять и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21;

- соблюдать правила последовательной обработки материала и поточность продвижения исследуемого материала. Лабораторный процесс должен быть односторонним. Каждый этап анализа должен проводиться в самостоятельных рабочих зонах (помещениях). Запрещается перемещение лабораторного оборудования, в том числе дозаторов, штативов, лабораторной посуды, халатов, головных уборов и пр., а также растворов реагентов из одного помещения в другое;

- использовать отдельный для каждого образца/реагента одноразовый наконечник с фильтром;

- не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию в паспорте качества;

- не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции;

- использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами;

- избегать контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью. Тщательно вымыть руки по окончании работы.

Специфические воздействия набора реагентов на организм человека: канцерогенный эффект, мутагенное действие, репродуктивная токсичность отсутствуют.

При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности изделие является безопасным.

При использовании набора реагентов нет необходимости принимать меры предосторожности в отношении влияния магнитных полей, внешних электрических воздействий, электростатических разрядов, давления или перепадов давления, перегрузки, источников термического воспламенения. При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.

5. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ НАБОРА

- ПЦР-бокс или бокс микробиологической безопасности (БМБ) I или II класса;
- термоблок для пробирок объемом 1,5–2,0 мл, до 900 об/мин, с возможностью нагрева не менее чем до 95 °С;
- высокоскоростная центрифуга для пробирок объемом 1,5–2,0 мл, до 16 тыс. об/мин;
- микроцентрифуга-вортекс;
- магнитный штатив для пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл;
- штатив для пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл;
- набор дозаторов пипеточных переменного объема на 1000, 200, 20 и 10 мкл;
- холодильник от 2 °С до 8 °С, с морозильной камерой не выше минус 16 °С;
- буфер ТЕ, додецилсульфат натрия (SDS, 10 %), протеиназа К (10 мг/мл) – в случае выделения ДНК из тканевого материала, фиксированного парафином;
- бидистиллированная вода – в случае выделения ДНК из образцов волос и ногтей;
- наконечники с аэрозольным барьером для дозатора переменного объема на 1000, 200, 20 и 10 мкл;
- микроцентрифужные пробирки, не содержащие ДНКазы и РНКазы, объемом 1,5 и 2,0 мл;
- емкость для сброса использованных материалов.

6. СТАНДАРТНЫЙ ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК

Стандартный протокол может быть использован для выделения препаратов ДНК из жидкой цельной крови, физиологических жидкостей (спермы, слюны).

Максимальное количество образца, используемое для выделения ДНК, указано в таблице 1.

Выделение ДНК проводить в боксе биологической безопасности I или II класса либо ПЦР-боксе.

6.1. Лизис

1. Если набор хранился в холодильнике, перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18–25 °C) в течение 30 мин. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50–60 °C до полного растворения осадка.
2. Нагреть термошейкер до 75 °C.
3. Маркировать необходимое количество микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл для исследуемых образцов.
4. Поместить исследуемый образец в промаркированную пробирку.
5. Добавить в пробирку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
6. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель.
7. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °C и 900 об/мин в течение 15 мин.

Примечание – Если в образцах после лизиса видны сгустки, рекомендуется центрифугировать образцы в течение 10 мин при 15000 об/мин (21000 g). Для дальнейшего выделения использовать только надосадочную жидкость, перенести ее в чистую микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2. Связывание геномной ДНК с магнитными частицами

ВАЖНО! *Сорбирующий раствор* тщательно перемешать, чтобы не осталось осадка на дне флакона.

ВАЖНО! При работе с большим количеством образцов *Сорбирующий раствор* необходимо встряхивать каждые 5 мин в течение всего времени работы с ним.

1. В пробирку с лизированным образцом добавить 20 мкл *Сорбирующего раствора* и 200 мкл *Осаждающего раствора*. Тщательно перемешать содержимое пробирки на вортексе до равномерного распределения сорбента.
2. Поместить пробирку на 10 мин в термошейкер (900 об/мин) при комнатной температуре (18–25 °C).
3. Центрифугировать пробирку для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1–2 мин. Максимально удалить супернатант.

ВАЖНО! Удаляя супернатант, старайтесь не затрагивать осадок с магнитными частицами.

6.3. Отмывка связанной ДНК

1. Добавить в пробирку 500 мкл *Промывочного раствора*. Перемешать содержимое на вортексе до равномерного распределения сорбента.
2. Центрифугировать пробирку в течение 30 с для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1–2 мин. Удалить супернатант.

3. Повторно добавить в пробирку 500 мкл *Промывочного раствора*. Перемешать содержимое на вортексе до равномерного распределения сорбента.
4. Центрифугировать пробирку в течение 30 с для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1–2 мин. Максимально удалить супернатант.

ВАЖНО! Удаляя супернатант, старайтесь не затрагивать осадок с магнитными частицами.

5. Инкубировать пробирку с осадком сорбента в термошейкере 5 мин при 55 °С с открытой крышкой.

ВАЖНО! Не допускать пересыхания осадка сорбента.

6.4. Десорбция

1. Нагреть термошейкер до 70 °С.
2. Добавить в пробирку с образцом от 30 до 100 мкл *Элюирующего раствора*. Перемешать содержимое на вортексе до равномерного распределения сорбента.
3. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать в течение 10 мин при температуре 70 °С и 900 об/мин.
8. Центрифугировать пробирку в течение 30 с для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1–2 мин.
4. Аккуратно, не затрагивая магнитный сорбент, перенести надосадочную жидкость в чистую микроцентрифужную пробирку.

Примечания

- 1) Если некоторое количество магнитного сорбента было перенесено вместе с раствором ДНК, перед постановкой ПЦР необходимо пробирки с образцами установить на 1–2 мин в магнитный штатив во избежание попадания магнитных частиц в пробирки с ПЦР-смесью и ингибирования ПЦР.
- 2) Раствор ДНК может храниться при температуре от 2 °С до 8 °С в течение суток и при температуре не выше минус 16 °С в течение года.

7. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ПРОТОКОЛЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК

Выделение ДНК проводить в боксе биологической безопасности I или II класса либо ПЦР-боксе.

7.1. Выделение ДНК из биологических образцов, адсорбированных на предмете-носителе

Данный протокол может быть использован для выделения препаратов ДНК из крови на картах или тканевом носителе, слюны и спермы на тканевом носителе, клеток на клейкой ленте.

7.1.1 Подготовка образца

Максимальное количество образца, используемое для выделения ДНК, указано в таблице 1.

Вырезать часть носителя (карты, ткани, клейкой ленты) с биологическим образцом и поместить образец в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл. Промаркировать пробирку. Кратковременно центрифугировать пробирку для сброса образца на дно.

7.1.2 Лизис

1. Если набор хранился в холодильнике, перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18–25 °С) в течение 30 мин. *Лизирующий*

- раствор* прогреть при температуре 50–60 °С до полного растворения осадка.
2. Нагреть термошейкер до 75 °С.
 3. Добавить в пробирку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
 4. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель.
 5. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
 6. Маркировать необходимое количество чистых микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл.
 7. Центрифугировать пробирку с образцом после инкубации 2 мин при 15000 об/мин (21000 g).
 8. Аккуратно, не захватывая осадок, перенести супернатант в чистую микроцентрифужную пробирку соответственно маркировке.
 9. Далее следовать процедурам стандартного протокола (пп. 6.2–6.4).

7.2. Выделение ДНК из навески ткани

7.2.1 Подготовка образца

Максимальное количество образца, используемое для выделения ДНК, указано в таблице 1.

Гомогенизировать навеску исследуемой ткани и поместить образец в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл. Промаркировать пробирку.

7.2.2 Лизис

1. Если набор хранился в холодильнике, перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18–25 °С) в течение 30 мин. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50–60 °С до полного растворения осадка.
2. Нагреть термошейкер до 75 °С.
3. Добавить в пробирку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
4. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель.
5. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
6. Маркировать необходимое количество чистых микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл.
7. Центрифугировать пробирку с образцом после инкубации 5 мин при 15000 об/мин (21000 g).
8. Аккуратно, не захватывая осадок, перенести супернатант в чистую микроцентрифужную пробирку соответственно маркировке.
9. Далее следовать процедурам стандартного протокола (пп. 6.2–6.4).

7.3. Выделение ДНК из буккальных клеток

Данный протокол может быть использован для выделения препаратов ДНК из буккального эпителия или мазков на специализированных зондах.

7.3.1 Подготовка образца

Максимальное количество образца, используемое для выделения ДНК, указано в таблице 1.

Отрезать головку зонда и поместить ее в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл. Промаркировать пробирку.

7.3.2 Лизис

1. Если набор хранился в холодильнике, перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18–25 °С) в течение 30 мин. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50–60 °С до полного растворения осадка.
2. Нагреть термошейкер до 75 °С.
3. Добавить в пробирку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
4. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель. Убедиться, что образец полностью погружен в раствор.
5. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
6. Головку зонда извлечь из пробирки, используя пинцет, и максимально отжать о стенку пробирки.
7. Далее следовать процедурам стандартного протокола (пп. 6.2–6.4).

7.4. Выделение ДНК из суспензии клеток

7.4.1 Подготовка образца

Максимальное количество образца, используемое для выделения ДНК, указано в таблице 1.

Суспензию клеток поместить в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл, промаркировать пробирку и центрифугировать 5 мин при 15000 об/мин (21000g). Аккуратно удалить верхнюю надосадочную жидкость.

7.4.2 Лизис

1. Если набор хранился в холодильнике, перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18–25 °С) в течение 30 мин. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50–60 °С до полного растворения осадка.
2. Нагреть термошейкер до 75 °С.
3. Добавить в пробирку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
4. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель.
5. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
6. Маркировать необходимое количество чистых микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл.
7. Центрифугировать пробирку с образцом после инкубации 5 мин при 15000 об/мин (21000 g).
8. Аккуратно, не затрагивая осадок, перенести супернатант в чистую микроцентрифужную пробирку соответственно маркировке.
9. Далее следовать процедурам стандартного протокола (пп. 6.2–6.4).

7.5. Выделение ДНК из волос

7.5.1 Подготовка образца

Максимальное количество образца, используемое для выделения ДНК, указано в таблице 1.

Исследуемые образцы волос промыть бидистиллированной водой и высушить. Отрезать фрагмент стержня волоса с волосяной луковицей длиной 3–5 мм и поместить в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл. Промаркировать пробирку. Кратковременно центрифугировать пробирку для сброса фрагмента стержня волоса на дно.

Выделение ДНК может быть также проведено из образцов волос, не подвергнутых предварительной промывке. Такой подход может повысить суммарный выход экстрагированной ДНК. Однако необходимо иметь в виду, что наложения, присутствующие на стержне волоса, могут являться источником контаминации.

7.5.2 Лизис

1. Если набор хранился в холодильнике, перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18–25 °C) в течение 30 мин. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50–60 °C до полного растворения осадка.
2. Нагреть термошейкер до 75 °C.
3. Добавить в пробирку с образцом 200 мкл *Лизирующего раствора*.
4. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель. Убедиться, что волос находится в растворе, а не на стенке пробирки.
5. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °C и 900 об/мин в течение 15 мин.
6. Маркировать необходимое количество чистых микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл.
7. Центрифугировать пробирку с образцом после инкубации 2 мин при 12000–16000 об/мин.
8. Аккуратно, не захватывая волос, перенести супернатант в чистую микроцентрифужную пробирку соответственно маркировке.

7.5.3 Связывание геномной ДНК с магнитными частицами

ВАЖНО! *Сорбирующий раствор* тщательно перемешать, чтобы не осталось осадка на дне флакона.

ВАЖНО! При работе с большим количеством образцов *Сорбирующий раствор* необходимо встряхивать каждые 5 мин в течение всего времени работы с ним.

1. В пробирку с лизированным образцом добавить 20 мкл *Сорбирующего раствора* и 100 мкл *Осаждающего раствора*. Тщательно перемешать содержимое пробирки на вортексе до равномерного распределения сорбента.
2. Поместить пробирку на 10 мин в термошейкер (900 об/мин) при комнатной температуре (18–25 °C).
3. Центрифугировать пробирку для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1–2 мин. Максимально удалить супернатант.

ВАЖНО! Удаляя супернатант, старайтесь не затрагивать осадок с магнитными частицами.

4. Далее следовать процедурам стандартного протокола (пп. 6.3–6.4).

7.6. Выделение ДНК из ногтей

7.6.1 Подготовка образца

Максимальное количество образца, используемое для выделения ДНК, указано в таблице 1.

Исследуемые образцы ногтевых пластин очистить от подногтевого содержимого. Ногтевые пластины необходимо промыть бидистиллированной водой и высушить. Высушенные образцы длиной не более 3–5 мм поместить в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл. Промаркировать пробирку. Кратковременно центрифугировать пробирку для сброса образца на дно.

Примечание – Выделение ДНК из биологического материала, присутствующего в подногтевом содержимом, может быть проведено отдельно с использованием данного протокола.

7.6.2 Лизис

1. Если набор хранился в холодильнике, перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18–25 °C) в течение 30 мин. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50–60 °C до полного растворения осадка.
2. Нагреть термошейкер до 75 °C.
3. Добавить в пробирку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
4. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель.
5. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °C и 900 об/мин в течение 15 мин.
6. Маркировать необходимое количество чистых микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл.
7. Центрифугировать пробирку с образцом после инкубации 2 мин при 12000–16000 об/мин.
8. Аккуратно, не захватывая остатки ногтя, перенести супернатант в чистую микроцентрифужную пробирку соответственно маркировке. Закрыть пробирку крышкой.
9. Далее следовать процедурам стандартного протокола (пп. 6.2–6.4).

7.7. Выделение ДНК из жевательной резинки, сигаретного окурка

7.7.1 Подготовка образца

Максимальное количество образца, используемое для выделения ДНК, указано в таблице 1.

Жевательная резинка: растянуть жевательную резинку в виде тонкого кружка на чистой чашке Петри. Закрыть чашку и заморозить ее при минус 80 °C в течение как минимум двух часов. Достать чашку Петри, разрезать жевательную резинку на 8 частей. Использовать только один кусочек для выделения ДНК.

Сигаретный окурок: необходимо использовать только оберточную бумагу, покрывающую сигаретный фильтр. Отрезать кусочек размером 5 мм и разрезать его на 2-3 более мелких кусочка, которые будут использованы для выделения ДНК. Необходимо минимизировать количество волокон сигаретного фильтра, попадающего в образец.

7.7.2 Лизис

1. Если набор хранился в холодильнике, перед началом работы все компоненты набора

- выдержать при комнатной температуре (18–25 °C) в течение 30 мин. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50–60 °C до полного растворения осадка.
2. Нагреть термошейкер до 75 °C.
 3. Поместить образец в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл. Промаркировать. Кратковременно центрифугировать пробирку для сброса кусочков образца на дно.
 4. Добавить в пробирку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
 5. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель. Убедиться, что образец полностью погружен в раствор.
 6. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °C и 900 об/мин в течение 15 мин.
 7. Маркировать необходимое количество чистых микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл.
 8. Центрифугировать пробирку после инкубации 2 мин при 12000–16000 об/мин.
 9. Аккуратно, не затрагивая осадок, перенести супернатант в чистую микроцентрифужную пробирку соответственно маркировке. Закрыть пробирку крышкой.
 10. Далее следовать процедурам стандартного протокола (пп. 6.2–6.4).

7.8. Выделение ДНК из тканей, фиксированных парафином

ВАЖНО! При использовании протокола выделения ДНК из тканей, фиксированных парафином, реагентов, входящих в состав модели «М-Сорб-50», хватает на 33 экстракции ДНК; реагентов, входящих в состав модели «М-Сорб-100» хватает на 66 экстракций ДНК.

7.8.1 Подготовка образца

Максимальное количество образца, используемое для выделения ДНК, указано в таблице 1.

Используя скальпель, сделать несколько вертикальных срезов с парафинового блока перпендикулярно к поверхности ткани. При наличии микротомы можно вырезать до 8 секций толщиной до 10 мкм.

Примечание – При подготовке объектов необходимо свести к минимуму количество захватываемого парафина.

7.8.2 Лизис

1. Приготовить раствор для депарафинизации. Для этого смешать из расчета на один образец: 96,5 мкл *Буфера TE*, 0,5 мкл *додецилсульфат натрия (SDS, 10 %)* и 3 мкл *Протеиназы K (10 мг/мл)*.

Примечание – Компоненты раствора для депарафинизации не входят в состав набора реагентов «М-Сорб».

2. Если набор хранился в холодильнике, перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18–25 °C) в течение 30 мин. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50–60 °C до полного растворения осадка.
3. Нагреть термошейкер до 56 °C.
4. Поместить образец в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл. Промаркировать.
5. Добавить в пробирку с образцом 100 мкл раствор для депарафинизации.

6. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель.
7. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 56 °C и 900 об/мин в течение 60 мин.
8. Выставить температуру нагрева термошейкера 95 °C, продолжить инкубацию в течение 15 мин при 900 об/мин.
9. Вынуть пробирку из термошейкера. Дать образцу остыть до комнатной температуры.
ВАЖНО! Не остужать пробирки с образцами искусственно.
10. Центрифугировать пробирку в течение 30 с при 13000–16000 об/мин.
11. Нагреть термошейкер до 75 °C.
12. Добавить в пробирку с образцом 500 мкл *Лизирующего раствора*.
13. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель.
14. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °C и 900 об/мин в течение 20 мин.
15. Маркировать необходимое количество чистых микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл.
16. Центрифугировать пробирку с образцом после инкубации в течение 2 мин при 13000–16000 об/мин.
17. Аккуратно, не затрагивая осадок, перенести супернатант в чистую микроцентрифужную пробирку соответственно маркировке.

7.8.3 Связывание геномной ДНК с магнитными частицами

ВАЖНО! *Сорбирующий раствор* тщательно перемешать, чтобы не осталось осадка на дне флакона.

ВАЖНО! При работе с большим количеством образцов *Сорбирующий раствор* необходимо встряхивать каждые 5 мин в течение всего времени работы с ним.

ВАЖНО! После лизиса дать образцу остыть до комнатной температуры. Не остужать пробирки с образцами искусственно.

1. В пробирку с лизированным образцом добавить 20 мкл *Сорбирующего раствора*. Закрыть крышку, пробирку встряхнуть на вортексе и кратко центрифугировать.
2. Добавить 300 мкл *Осаждающего раствора*. Тщательно перемешать содержимое пробирки на вортексе до равномерного распределения сорбента.
3. Поместить пробирку на 10 мин в термошейкер (900 об/мин) при комнатной температуре (18–25 °C).
4. Центрифугировать пробирку для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1–2 мин. Максимально удалить супернатант.
ВАЖНО! Удаляя супернатант, старайтесь не затрагивать осадок с магнитными частицами.
5. Далее следовать процедурам стандартного протокола (пп. 6.3–6.4).

7.9. Выделение ДНК из образцов с увеличенным объемом

ВАЖНО! При использовании протокола выделения ДНК из образцов с увеличенным объемом реагентов, входящих в состав модели «М-Сорб-50», хватает на 33 экстракции ДНК; реагентов, входящих в состав модели «М-Сорб-100» хватает на 66 экстракций ДНК.

7.9.1. Лизис

1. Если набор хранился в холодильнике, перед началом работы все компоненты набора выдержать при комнатной температуре (18–25 °С) в течение 30 мин. *Лизирующий раствор* прогреть при температуре 50–60 °С до полного растворения осадка.
2. Нагреть термошейкер до 75 °С.
3. Поместить образец в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл. Промаркировать.
4. Добавить в пробирку с образцом 600 мкл *Лизирующего раствора*.

ВАЖНО! Не рекомендуется добавлять более 600 мкл *Лизирующего раствора*.

5. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе в течение 5–10 с, центрифугировать для сброса капель.
6. Поместить пробирку в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.

Примечание – Если в образцах после лизиса видны сгустки и темные вкрапления, рекомендуется центрифугировать образцы в течение 10 мин при 15000 об/мин (21000 g). Для дальнейшего выделения использовать только надосадочную жидкость, перенести ее в чистую микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл.

7.9.2. Связывание геномной ДНК с магнитными частицами

ВАЖНО! *Сорбирующий раствор* тщательно перемешать, чтобы не осталось осадка на дне флакона.

ВАЖНО! При работе с большим количеством образцов *Сорбирующий раствор* необходимо встряхивать каждые 5 мин в течение всего времени работы с ним.

1. В пробирку с лизированным образцом добавить 20 мкл *Сорбирующего раствора*. Закрыть крышку, пробирку встряхнуть на вортексе и кратко центрифугировать.
2. Добавить 300 мкл *Осаждающего раствора*. Тщательно перемешать содержимое пробирки на вортексе до равномерного распределения сорбента.
3. Поместить пробирку на 10 мин в термошейкер (900 об/мин) при комнатной температуре (18–25 °С).
4. Центрифугировать пробирку для сброса капель. Установить в магнитный штатив на 1–2 мин. Максимально удалить супернатант.

ВАЖНО! Удаляя супернатант, старайтесь не затрагивать осадок с магнитными частицами.

5. Далее следовать процедурам стандартного протокола (пп. 6.3–6.4).

8. ИНФОРМАЦИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

Компоненты набора реагентов (использованные, неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения), внешнюю упаковку набора, эксплуатационную документацию необходимо утилизировать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

9. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении условий его транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора направлять производителю ООО «НПФ Синтол» по адресу: 127550, г. Москва, Тимирязевская ул., д. 42, тел. (495) 984-69-93, e-mail: syntol@syntol.ru.

10. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

Символ	Значение
	Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Температурный диапазон
	Не допускать воздействия солнечного света
	Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Изготовитель
	Дата изготовления
	Использовать до
	Номер по каталогу
	Код партии
	Запрет на повторное применение
	Верх