

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 модели «M-Corб AutoMate Express».....	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.	ПРОТОКОЛЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК.....	7
6.1.	Выделение ДНК из жидкой цельной крови, спермы, слюны.....	7
6.2.	Выделение ДНК из биологических образцов, адсорбированных на предмете-носителе.....	8
6.3.	Выделение ДНК из навески ткани.....	9
6.4.	Выделение ДНК из буккальных клеток.....	11
6.5.	Выделение ДНК из суспензии клеток.....	12
6.6.	Выделение ДНК из волос.....	14
6.7.	Выделение ДНК из ногтей.....	15
6.8.	Выделение ДНК из жевательной резинки, сигаретного окурка.....	17
7.	ИНФОРМАЦИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ.....	19
8.	ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	19
9.	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА.....	19

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 модели «М-Сорб AutoMate Express»

Модель набора «М-Сорб AutoMate Express» (кат. № HG-501-AE) предназначена для выделения ДНК с использованием автоматической станции «AutoMate Express» (Applied Biosystems) и рассчитана на проведение 52 экстракций ДНК.

Примечание – Модель набора «М-Сорб AutoMate Express» не предназначена для выделения ДНК из тканевого материала, фиксированного парафином. Для работы с данным типом исследуемого материала используйте модели набора «М-Сорб-50» (кат. № HG-501-50), «М-Сорб-100» (кат. № HG-501-100), «М-Сорб COLIBRI 48» (кат. № HG-501-A48), «М-Сорб COLIBRI 96» (кат. № HG-501-A96).

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
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 модели «M-Corb AutoMate Express»

№	Компонент	Номинальный объем, мл/ масса, мг	Количество
1.	Лизирующий раствор	26 мл	1 флакон
2.	Картридж с реагентами «M-Corb AutoMate Express»: Сорбирующий раствор Осаждающий раствор Промывочный раствор Элюирующий раствор	- 0,04 мл 0,5 мл 0,5 мл 0,15 мл	52 шт. вторая лунка третья лунка лунки с 4-й по 6-ю седьмая лунка
3.	Наконечники для «AutoMate Express»	-	52 шт.
4.	Колонки	-	52 шт.
5.	Пробирки для колонок	-	52 шт.
6.	Пробирки для сбора элюата	-	52 шт.

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 °C до 25 °C в защищенном от света месте.

ВАЖНО! Картриджи с реагентами «M-Corb AutoMate Express» не замораживать.

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

Эксплуатация: Исследование образцов с использованием набора должно проводиться при температуре от 15 °C до 35 °C 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 однонаправленным. 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;
- автоматическая станция выделения ДНК «AutoMate Express» (Applied Biosystems, США);
- термошейкер 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;
- 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;
- 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;
- емкость для сброса использованных материалов.

6. ПРОТОКОЛЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК

Работы по подготовке реагентов и образцов для постановки в автоматическую станцию проводить в боксе биологической безопасности I или II класса либо ПЦР-боксе.

6.1. Выделение ДНК из жидкой цельной крови, спермы, слюны

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

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. Вставить необходимое количество колонок в пробирки для колонок и промаркировать.
4. Поместить исследуемый образец в промаркированную колонку, вставленную в пробирку для колонок.
5. Добавить в колонку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
6. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки.
7. Поместить пробирку с колонкой в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
8. После проведения лизиса центрифугировать пробирку с вставленной колонкой 2 мин при 10000–15000 об/мин для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
9. Извлечь из упаковки необходимое количество картриджей (по числу образцов, один картридж рассчитан на выделение одного образца) с реагентами «M-Corб AutoMate Express», установить картриджи в держатель.
10. Поместить держатель с картриджами в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 1).



Рисунок 1 – Установка держателя с помещенными в него картриджами с реагентами «M-Corб AutoMate Express» в автоматическую станцию

11. Аккуратно вынуть и удалить колонку из пробирки для колонки.
12. Добавить в пробирку с образцом 100 мкл *Лизирующего раствора*.
13. Установить пробирки с образцами, пробирки для сбора элюата и наконечники (согласно количеству образцов) в штатив и поместить его в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 2).



Рисунок 2 – Установка штатива с пробирками и наконечниками в автоматическую станцию

14. Выбрать протокол выделения **PF Express** на автоматической станции «AutoMate Express» и запустить выделение.
15. После завершения выделения извлечь пробирки для сбора элюата с выделенными препаратами ДНК, отработанные картриджи с реагентами и наконечники извлечь и утилизировать.

Примечание – Полученный 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.

6.2. 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.

6.2.1. Подготовка образца

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

Вставить необходимое количество колонок в пробирки для колонок и промаркировать. Вырезать часть носителя (карты, ткани, клейкой ленты) с биологическим образцом и поместить образец в промаркированную колонку, вставленную в пробирку для колонки.

6.2.2. Выделение ДНК

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 колонку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
4. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки.
5. Поместить пробирку с колонкой в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
6. После проведения лизиса центрифугировать пробирку с вставленной колонкой 2 мин при 10000–15000 об/мин для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
7. Извлечь из упаковки необходимое количество картриджей (по числу образцов, один картридж рассчитан на выделение одного образца) с реагентами «M-Corb AutoMate Express», установить картриджи в держатель.

8. Поместить держатель с картриджами в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 3).



Рисунок 3 – Установка держателя с помещенными в него картриджами с реагентами «M-Corб AutoMate Express» в автоматическую станцию

9. Аккуратно вынуть и удалить колонку из пробирки для колонки.
10. Добавить в пробирку с образцом 100 мкл *Лизирующего раствора*.
11. Установить пробирки с образцами, пробирки для сбора элюата и наконечники (согласно количеству образцов) в штатив и поместить его в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 4).



Рисунок 4 – Установка штатива с пробирками и наконечниками в автоматическую станцию

12. Выбрать протокол выделения **PF Express** на автоматической станции «AutoMate Express» и запустить выделение.
13. После завершения выделения извлечь пробирки для сбора элюата с выделенными препаратами ДНК, отработанные картриджи с реагентами и наконечники извлечь и утилизировать.

Примечание – Полученный раствор ДНК может храниться при температуре от 2 °C до 8 °C в течение суток и при температуре не выше минус 16 °C в течение года.

6.3. Выделение ДНК из навески ткани

6.3.1. Подготовка образца

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

Вставить необходимое количество колонок в пробирки для колонок и промаркировать. Гомогенизировать навеску исследуемой ткани и поместить образец в промаркированную колонку, вставленную в пробирку для колонок.

6.3.2. Выделение ДНК

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 колонку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
4. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки.
5. Поместить пробирку с колонкой в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
6. После проведения лизиса центрифугировать пробирку с вставленной колонкой 2 мин при 10000–15000 об/мин для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
7. Извлечь из упаковки необходимое количество картриджей (по числу образцов, один картридж рассчитан на выделение одного образца) с реагентами «М-Сорб AutoMate Express», установить картриджи в держатель.
8. Поместить держатель с картриджами в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 5).



Рисунок 5 – Установка держателя с помещенными в него картриджами с реагентами «М-Сорб AutoMate Express» в автоматическую станцию

9. Аккуратно вынуть и удалить колонку из пробирки для колонки.
10. Добавить в пробирку с образцом 100 мкл *Лизирующего раствора*.
11. Установить пробирки с образцами, пробирки для сбора элюата и наконечники (согласно количеству образцов) в штатив и поместить его в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 6).



Рисунок 6 – Установка штатива с пробирками и наконечниками в автоматическую станцию

12. Выбрать протокол выделения **PF Express** на автоматической станции «AutoMate Express» и запустить выделение.
13. После завершения выделения извлечь пробирки для сбора элюата с выделенными препаратами ДНК, отработанные картриджи с реагентами и наконечники извлечь и утилизировать.

Примечание – Полученный 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.

6.4. Выделение ДНК из буккальных клеток

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

6.4.1. Подготовка образца

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

Вставить необходимое количество колонок в пробирки для колонок и промаркировать. Отрезать головку зонда и поместить ее в промаркированную колонку, вставленную в пробирку для колонки.

6.4.2. Выделение ДНК

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 колонку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
4. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки.
5. Поместить пробирку с колонкой в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
6. После проведения лизиса центрифугировать пробирку с вставленной колонкой 2 мин при 10000–15000 об/мин для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
7. Извлечь из упаковки необходимое количество картриджей (по числу образцов, один картридж рассчитан на выделение одного образца) с реагентами «M-Corb AutoMate Express», установить картриджи в держатель.
8. Поместить держатель с картриджами в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 7).



Рисунок 7 – Установка держателя с помещенными в него картриджами с реагентами «M-Corb AutoMate Express» в автоматическую станцию

9. Аккуратно вынуть и удалить колонку из пробирки для колонки.
10. Добавить в пробирку с образцом 100 мкл *Лизирующего раствора*.
11. Установить пробирки с образцами, пробирки для сбора элюата и наконечники (согласно количеству образцов) в штатив и поместить его в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 8).



Рисунок 8 – Установка штатива с пробирками и наконечниками в автоматическую станцию

12. Выбрать протокол выделения **PF Express** на автоматической станции «AutoMate Express» и запустить выделение.
13. После завершения выделения извлечь пробирки для сбора элюата с выделенными препаратами ДНК, отработанные картриджи с реагентами и наконечники извлечь и утилизировать.

Примечание – Полученный 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.

6.5. Выделение ДНК из суспензии клеток

6.5.1. 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.

6.5.2. Выделение ДНК

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 осадком образца 400 мкл *Лизирующего раствора*.
4. Закрыть пробирку крышкой, встряхнуть на вортексе до полного растворения осадка, центрифугировать для сброса капель.
5. Вставить необходимое количество колонок в пробирки для колонок и промаркировать. Перенести полученный в п.3 раствор из пробирки в промаркированную колонку, вставленную в пробирку для колонки. Закрыть колонку крышкой.

6. Поместить пробирку с колонкой в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
7. После проведения лизиса центрифугировать пробирку с вставленной колонкой 2 мин при 10000–15000 об/мин для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
8. Извлечь из упаковки необходимое количество картриджей (по числу образцов, один картридж рассчитан на выделение одного образца) с реагентами «М-Сорб AutoMate Express», установить картриджи в держатель.
9. Поместить держатель с картриджами в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 9).



Рисунок 9 – Установка держателя с помещенными в него картриджами с реагентами «М-Сорб AutoMate Express» в автоматическую станцию

10. Аккуратно вынуть и удалить колонку из пробирки для колонки.
11. Добавить в пробирку с образцом 100 мкл *Лизирующего раствора*.
12. Установить пробирки с образцами, пробирки для сбора элюата и наконечники (согласно количеству образцов) в штатив и поместить его в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 10).



Рисунок 10 – Установка штатива с пробирками и наконечниками в автоматическую станцию

13. Выбрать протокол выделения **PF Express** на автоматической станции «AutoMate Express» и запустить выделение.
14. После завершения выделения извлечь пробирки для сбора элюата с выделенными препаратами ДНК, отработанные картриджи с реагентами и наконечники извлечь и утилизировать.

Примечание – Полученный 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.

6.6. Выделение ДНК из волос

6.6.1. 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.

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.

6.6.2. Выделение ДНК

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. Вставить необходимое количество колонок в пробирки для колонок и промаркировать.
4. Поместить исследуемый образец в промаркированную колонку, вставленную в пробирку для колонок.
5. Добавить в колонку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
6. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки.
7. Поместить пробирку с колонкой в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
8. После проведения лизиса центрифугировать пробирку с вставленной колонкой 2 мин при 10000–15000 об/мин для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
9. Извлечь из упаковки необходимое количество картриджей (по числу образцов, один картридж рассчитан на выделение одного образца) с реагентами «M-Corб AutoMate Express», установить картриджи в держатель.
10. Поместить держатель с картриджами в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 11).



Рисунок 11 – Установка держателя с помещенными в него картриджами с реагентами «M-Corб AutoMate Express» в автоматическую станцию

11. Аккуратно вынуть и удалить колонку из пробирки для колонки.

12. Добавить в пробирку с образцом 100 мкл *Лизирующего раствора*.
13. Установить пробирки с образцами, пробирки для сбора элюата и наконечники (согласно количеству образцов) в штатив и поместить его в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 12).



Рисунок 12 – Установка штатива с пробирками и наконечниками в автоматическую станцию

14. Выбрать протокол выделения **PF Express** на автоматической станции «AutoMate Express» и запустить выделение.
15. После завершения выделения извлечь пробирки для сбора элюата с выделенными препаратами ДНК, отработанные картриджи с реагентами и наконечники извлечь и утилизировать.

Примечание – Полученный 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.

6.7. Выделение ДНК из ногтей

6.7.1. 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. Для выделения ДНК использовать высушенные образцы длиной не более 3–5 мм.

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

6.7.2. Выделение ДНК

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. Вставить необходимое количество колонок в пробирки для колонок и промаркировать.
4. Поместить исследуемый образец в промаркированную колонку, вставленную в пробирку для колонок.
5. Добавить в колонку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
6. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки.

7. Поместить пробирку с колонкой в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
8. После проведения лизиса центрифугировать пробирку с вставленной колонкой 2 мин при 10000–15000 об/мин для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
9. Извлечь из упаковки необходимое количество картриджей (по числу образцов, один картридж рассчитан на выделение одного образца) с реагентами «М-Сорб AutoMate Express», установить картриджи в держатель.
10. Поместить держатель с картриджами в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 13).



Рисунок 13 – Установка держателя с помещенными в него картриджами с реагентами «М-Сорб AutoMate Express» в автоматическую станцию

11. Аккуратно вынуть и удалить колонку из пробирки для колонки.
12. Добавить в пробирку с образцом 100 мкл *Лизирующего раствора*.
13. Установить пробирки с образцами, пробирки для сбора элюата и наконечники (согласно количеству образцов) в штатив и поместить его в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 14).



Рисунок 14 – Установка штатива с пробирками и наконечниками в автоматическую станцию

14. Выбрать протокол выделения **PF Express** на автоматической станции «AutoMate Express» и запустить выделение.
15. После завершения выделения извлечь пробирки для сбора элюата с выделенными препаратами ДНК, отработанные картриджи с реагентами и наконечники извлечь и утилизировать.

Примечание – Полученный 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.

6.8. Выделение ДНК из жевательной резинки, сигаретного окурка

6.8.1. 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 °С 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.

6.8.2. Выделение ДНК

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. Вставить необходимое количество колонок в пробирки для колонок и промаркировать.
4. Поместить исследуемый образец в промаркированную колонку, вставленную в пробирку для колонок.
5. Добавить в колонку с образцом 400 мкл *Лизирующего раствора*.
6. Закрыть колонку крышкой пробирки для колонки.
7. Поместить пробирку с колонкой в термошейкер и инкубировать при температуре 75 °С и 900 об/мин в течение 15 мин.
8. После проведения лизиса центрифугировать пробирку с вставленной колонкой 2 мин при 10000–15000 об/мин для переноса лизата из колонки в пробирку для колонки.
9. Извлечь из упаковки необходимое количество картриджей (по числу образцов, один картридж рассчитан на выделение одного образца) с реагентами «М-Corб AutoMate Express», установить картриджи в держатель.
10. Поместить держатель с картриджами в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 15).



Рисунок 15 – Установка держателя с помещенными в него картриджами с реагентами «М-Corб AutoMate Express» в автоматическую станцию

11. Аккуратно вынуть и удалить колонку из пробирки для колонки.
12. Добавить в пробирку с образцом 100 мкл *Лизирующего раствора*.
13. Установить пробирки с образцами, пробирки для сбора элюата и наконечники (согласно количеству образцов) в штатив и поместить его в автоматическую станцию «AutoMate Express» (см. рисунок 16).

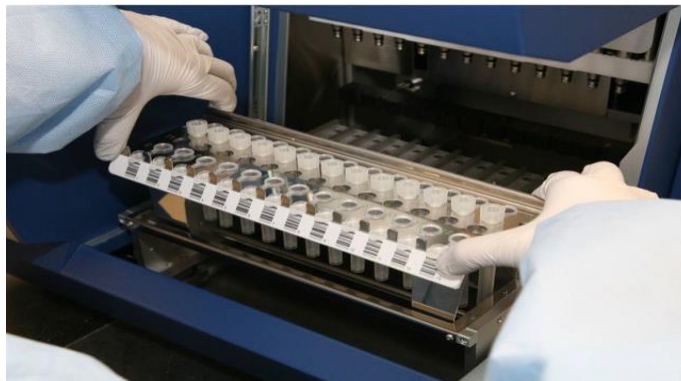


Рисунок 16 – Установка штатива с пробирками и наконечниками в автоматическую станцию

14. Выбрать протокол выделения **PF Express** на автоматической станции «AutoMate Express» и запустить выделение.
15. После завершения выделения извлечь пробирки для сбора элюата с выделенными препаратами ДНК, отработанные картриджи с реагентами и наконечники извлечь и утилизировать.

Примечание – Полученный 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. 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.

8. 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.

9. 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