



ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ
РЕАГЕНТ для выделения ДНК из лейкоцитов цельной крови с целью
последующего анализа
МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ.
(Инструкция по применению) 2014 г.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ предназначен для выделения геномной ДНК из биологического материала – лейкоцитов цельной крови для последующего анализа выделенной ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Реагент предназначен для применения только *in vitro*.

Реагент рассчитан на выделение ДНК из 100 анализируемых образцов.

2. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

2.1. Все компоненты реагента в используемых концентрациях являются нетоксичными.

2.2. Меры предосторожности - соблюдение “Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР” (Москва, 1981 г.), “ Методических рекомендаций по проведению работ в диагностических лабораториях, использующих метод ПЦР. Основные положения” (ГКСЭН РФ, 1995г);

3. СОСТАВ НАБОРА

Реагент для выделения ДНК «ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ»

(на 100 образцов): *Хранить при температуре +2..+8°С*

1) Реактив “ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ”60 мл (1 флакон)

4. ОБОРУДОВАНИЕ, РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

- Твердотельный термостат, поддерживающий температуру до +99 °С;
- Микроцентрифуга на 8-12000об/мин для пробирок объемом 1,5 мл;
- Микроцентрифуга-встряхиватель для микропробирок (типа “Вортекс”);
- Морозильник на - 20°С;
- Микропипетки полуавтоматические с объемом дозирования 40-200 мкл;
- Стерильные наконечники 1-200 мкл;
- Пробирки и аксессуары для взятия крови;
- Перчатки резиновые или пластиковые одноразовые;

5. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК из образца

5.1. Подготовка, хранение и доставка клинического материала

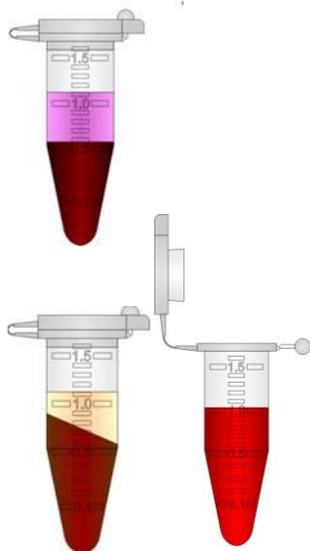
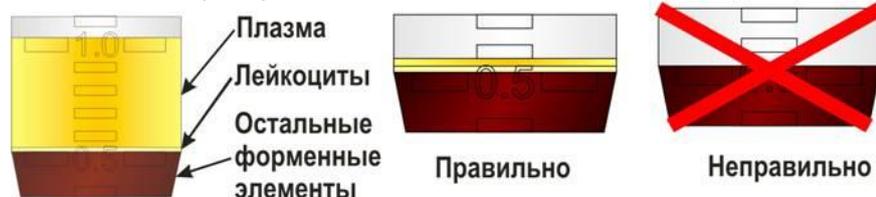
Венозную кровь в объеме не менее 1 мл собрать в одноразовую пластиковую пробирку с раствором антикоагулянта (0,05М раствор ЭДТА или 4% раствор цитрата натрия в соотношении 500 мкл крови на 50 мкл антикоагулянта). *Гепарин использовать не рекомендуется.* Материал доставляется в лабораторию течение 2-х часов, допускается хранение при +2...+8°C не более 4-5 часов.

5.3 Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь»



1. В пробирку типа «Эппендорф» с замком внести 1000 мкл цельной крови. Если кровь расслоилась в процессе хранения, то перед внесением ее необходимо перемешать до однородности.
2. Закрыть пробирку и центрифугировать со скоростью 3000 об/мин. при комнатной температуре в течение 5 мин. После центрифугирования кровь разделится на плазму и форменные элементы. На поверхности осадка форменных элементов расположен тонкий слой лейкоцитов (см. рисунок внизу).
3. Аккуратно удалить пипеткой плазму, не захватив при этом лейкоциты.

ВНИМАНИЕ! Полное удаление плазмы без захвата лейкоцитов практически невозможно. Поэтому следует оставить в пробирке тонкий слой плазмы.



4. Закрыть пробирку и выдержать ее при -20°C (в морозилке) до полного замораживания форменных элементов (в течение 1 ч.).
5. Полностью разморозить содержимое пробирки при комнатной температуре.
6. Внести в пробирку реагент «ДНК-экспресс-кровь». Его объем должен быть равен объему оставшихся в пробирке форменных элементов и плазмы (в примере объем остатка равен »550 мкл, суммарный объем остатка и реактива составил, таким образом, 1100 мкл). Закрыть пробирку, защелкнуть замочек.
7. Содержимое пробирки в течение 10 сек. тщательно перемешать на встряхивателе (вортексе).
8. Установить пробирку в предварительно прогретый до 99°C термостат и выдерживать в течение 25 минут.

Установить пробирку в высокоскоростную микроцентрифугу замком в сторону оси. Центрифугировать со скоростью 8000-14000 об/мин. при комнатной температуре в течение 15 сек.

Полученный таким образом супернатант использовать в качестве исследуемого образца ДНК.

Примечание. Если необходимо сохранить выделенную ДНК для дальнейшего использования, супернатант следует перенести в отдельную пробирку типа «Эппендорф» и хранить при -20°C (в морозилке) до 6 месяцев. Перед употреблением образец необходимо полностью разморозить при комнатной температуре.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ РЕАГЕНТА

- 6.1.** Реагент “ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ” должен храниться при температуре +2..+8°C в течение всего срока годности набора.
- 6.2.** Допускается хранение и транспортировка реагента “ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ” при температуре +20..+25°C в течение 2-3 суток.
- 6.4.** Срок годности реагента - 6 мес.
- 6.5.** Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению.

