

1. Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.
2. Внести в каждую пробирку по 450 мкл **Раствора 1**.
3. Внести в каждую пробирку по 100 мкл образца.
4. Ресуспендировать сорбент на вортексе и добавить в каждую пробирку отдельным наконечником по 25 мкл ресуспендированного **Сорбента**.
5. Перемешать содержимое пробирок на вортексе и оставить на 5 минут при комнатной температуре.
6. Центрифугировать пробирки для сброса капель с крышки на микроцентрифуге. Внести в каждую пробирку по 200 мкл **Раствора 4** и перемешать на вортексе в течение 10 сек.
7. Центрифугировать пробирки для осаждения сорбента при 10 тыс.об/мин в течение 30 секунд на микроцентрифуге и удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.
8. Добавить в пробирки по 400 мкл **Раствора 2**. Перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента.
9. Центрифугировать пробирки для осаждения сорбента при 10 тыс.об/мин в течение 30 секунд на микроцентрифуге и удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.
10. Добавить в пробирки по 500 мкл **Раствора 3**. Перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента, центрифугировать пробирки для осаждения сорбента при 10 тыс.об/мин в течение 30 секунд на микроцентрифуге и удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.
11. Повторить п. 10.
12. Добавить в пробирки по 200 мкл **Раствора 4**. Перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента, центрифугировать пробирки для осаждения сорбента при 10 тыс.об/мин в течение 30 секунд на микроцентрифуге и удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.
13. Оставить пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре на 10 минут.
14. Добавить в пробирки по 100 мкл **Раствора для элюции** и ресуспендировать сорбент с помощью вортекса.
15. Прогреть образцы в термостате при температуре 60°C в течение 5 минут, перемешать на вортексе и осадить сорбент на центрифуге при 13-14 тыс.об/мин в течение 2 минут.

Надосадочная жидкость содержит очищенную НК.

При постановке реакции амплификации следует не допускать попадания сорбента в реакционную смесь.

Полученный раствор НК можно хранить при температуре -18...-20°C в течение года.



ПАМЯТКА

по применению набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала

«НК-сорбент»

«Base»

для диагностики in vitro

«НК-сорбент» комплектации **«Base»** содержит готовые к применению реагенты, предназначенные для выделения НК из образцов биологического материала человека: биологических жидкостей (отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта и носоглотки, секрета предстательной железы, мочи, сыворотки или плазмы крови, отделяемого из ран, ликвора, синовиальной жидкости, экссудата); промывных вод; смывов, мазков и соскобов с оболочек органов и тканей.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Биоматериал	Транспортировка	Хранение
мазки, соскобы, отделяемое ран, отделяемое слизистых оболочек, секрет предстательной железы	Материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 1-3 часов, транспортировка должна производиться только в сумке-холодильнике.	Допускается хранение биопроб при +4...+8°C не более 1 суток, при -18...-20°C не более 2-х недель.
моча для осадка	Собранную мочу доставляют в лабораторию в течение 1-3 часов без дополнительного охлаждения. Для получения осадка исходный материал должен быть доставлен в лабораторию как можно быстрее.	<i>Не охлаждать и не замораживать!</i> Моча для исследования должна быть свежей.
сплина, ликвор, синовиальная жидкость, экссудат, смывы, промывные воды	Материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 1-3 часов, транспортировка должна производиться только в сумке-холодильнике.	<i>Не замораживать!</i> Материал для исследования должен быть свежим. Допускается хранение биопроб при +4...+8°C не более 1 суток.
плазма крови, сыворотка крови	Материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 1-3 часов, транспортировка должна производиться только в сумке-холодильнике.	<i>Не замораживать!</i> Допускается хранение биопроб при +4...+8°C не более 1 суток.
буккальный соскоб	Если образец предполагается хранить или	Допускается хранение биопроб при комнатной температуре

Биоматериал	Транспортировка	Хранение
	транспортировать, то палочку следует высушить на воздухе при комнатной температуре в течение трех часов, затем упаковать в промаркированный герметичный пакет или бумажный конверт. Транспортировка не требует сумки-холодильника.	не более 1 месяца.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОБРАБОТКА БИОМАТЕРИАЛА

За 10-15 минут до начала работы растворы 1 и 2 (если они хранились при температуре +2...+8°C) перенести в комнатные условия для полного растворения кристаллов. При необходимости дополнительно прогреть при 60°C до полного растворения кристаллов. Допустимо хранение Растворов 1 и 2 при комнатной температуре в течение всего срока годности набора реагентов.

Образцы буккального соскоба:

- Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.
- Внести в каждую пробирку по 450 мкл **Раствора 1**.
- Поместить в соответствующие пробирки палочки с буккальным соскобом ватным кончиком вниз. Отрезать палочки под крышку, закрыть пробирку и вортексировать 10 секунд. Инкубировать при комнатной температуре 5-10 минут. Открыть крышку, дополнительно поболтать палочку и аккуратно вынуть ее пинцетом, прижимая к внутренним стенкам пробирки для отжима из нее жидкости. Перед каждым новым образцом пинцет следует промывать. Продолжить выделение НК с п.4.

Образцы слюны, ликвора, синовиальной жидкости, секрета предстательной железы, эксудата:

- Центрифугировать пробирки с образцами в течение 10-15 минут на микроцентрифуге при максимальных оборотах.
- Тщательно удалить пипеткой верхний слой жидкости, оставив на дне около 20-30 (но не более 50) мкл.
- Внести в каждую пробирку по 450 мкл **Раствора 1** и по 10 мкл **ЭВК**. Продолжить выделение НК с п.4.

Образцы смывов и промывных вод:

- Весь объем образца смыва тщательно взболтать, отобрать 10-15 мл в стерильную центрифужную пробирку.
- Центрифугировать пробирки с образцами в течение 15-20 минут при 1500-3000 об/мин на центрифуге. Надосадочную жидкость осторожно удалить, стараясь не захватить на дне 0,5-1 мл суспензии.

- Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов. Перенести суспензию осадка (0,5–1 мл) в соответствующую чистую пробирку на 1,5 мл, пробирку плотно закрыть и центрифугировать при максимальных об/мин при комнатной температуре в течение 15 сек на микроцентрифуге. Тщательно удалить пипеткой надосадочную жидкость.
- Внести в каждую пробирку по 450 мкл **Раствора 1** и по 10 мкл **ЭВК**. Продолжить выделение НК с п.4.

Осадок мочи:

- Весь объем порции мочи тщательно взболтать, отобрать 10-15 мл в стерильную центрифужную пробирку.
- Центрифугировать пробирки с образцами в течение 15-20 минут при 1500-3000 об/мин на центрифуге. Надосадочную жидкость осторожно удалить, стараясь не захватить на дне 0,5-1 мл суспензии.
- Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов. Перенести суспензию осадка (0,5–1 мл) в соответствующую чистую пробирку на 1,5 мл, пробирку плотно закрыть и центрифугировать при максимальных об/мин при комнатной температуре в течение 15 сек на микроцентрифуге. Тщательно удалить пипеткой надосадочную жидкость.

В случае охлаждения образца исходной мочи рекомендуется однократно промыть осадок мочи: добавить к осадку 200-300 мкл физ. раствора, ресуспендировать на вортексе, центрифугировать и удалить надосадочную жидкость.

- Внести в каждую пробирку по 450 мкл **Раствора 1**. Продолжить выделение НК с п.4.

Образцы сыворотки и плазмы крови (без концентрирования):

- Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.
- Внести в каждую пробирку по 450 мкл **Раствора 1** и по 10 мкл **ЭВК**.
- Внести в каждую пробирку по 100 мкл образца. Продолжить выделение НК с п.4.

Образцы мазков, соскобов, отделяемого слизистых оболочек и ран предварительной обработки не требуют.

ВЫДЕЛЕНИЕ НК

За 10-15 минут до начала работы растворы 1 и 2 (если они хранились при температуре +2...+8°C) перенести в комнатные условия для полного растворения кристаллов. При необходимости дополнительно прогреть при 60°C до полного растворения кристаллов. Допустимо хранение Растворов 1 и 2 при комнатной температуре в течение всего срока годности набора реагентов.