

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ Реагентов для очистки РНК «АртРНК экстракт»

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект реагентов для очистки РНК «АртРНК экстракт» предназначен для экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, а также из биологических жидкостей (мочи, секрета предстательной железы, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ, спермы), фекалий, кровососущих членистоногих и проб из ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртРНК экстракт» позволяют одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из широкого спектра клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Метод выделения РНК/ДНК с использованием реагентов «АртРНК экстракт» отличается простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектации реагентов для очистки РНК/ДНК «АртРНК экстракт» указаны в таблице 1.

Таблица 1. Состав комплекта «АртРНК экстракт»

Компонент	Объем, не менее	
	на 50 выделений	на 100 выделений
1. Высаливающий раствор	15 мл	30 мл
2. Осаждающий раствор	55 мл	110 мл
3. Промывочный раствор	50 мл	100 мл
4. Элюирующий раствор	15 мл	15 мл
5. ВКО*	0,55 мл	1,1 мл

* Комплектуется в случае использования тест-систем серии «АртТест».

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод очистки суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртРНК экстракт» основан на осаждении нуклеиновых кислот спиртовым раствором с последующей промывкой осадка для удаления нежелательных примесей и растворением в буфере с низкой ионной силой. Данный метод позволяет быстро получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртРНК экстракт» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный или ПЦР-бокс;
- твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
- вортекс;
- набор дозаторов переменного объема;
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5–2,0 мл;
- штативы для пробирок 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 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 ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи, фекалий, БАЛ, мокроты, спермы, кровососущих членистоногих и проб из ОСОЧ требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. В случае выпадения осадка в **Высаливающем и/или Осаждающем растворах** растворить кристаллы интенсивным встряхиванием, допускается прогревание раствора до температуры 37 °С для лучшего растворения кристаллов.

I. В каждую пробирку внести по **300 мкл Высаливающего раствора** и по **10 мкл ВКО** (при его использовании).

II. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. Подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), добавить 100 мкл Элюирующего раствора или ОКО (отрицательного контрольного образца). ОКЭ рекомендуется ставить при каждой постановке выделения.

III. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °С**.

IV. Добавить в пробирки по **600 мкл Осаждающего раствора**, перемешать на вортексе в течение 10 с, инкубировать 30 с при комнатной температуре.

V. Центрифугировать в течение **5 мин** при **12 000 об/мин**.

VI. Не задевая осадок аккуратно **удалить надосадочную жидкость**.

VII. Добавить в пробирки по **500 мкл Осаждающего раствора**, промыть осадок, переворачивая пробирки 3–5 раз.

VIII. Центрифугировать в течение **1 мин** при **12 000 об/мин**.

IX. Не задевая осадок аккуратно **удалить надосадочную жидкость**

X. Внести в пробирки с осадком по **1 000 мкл Промывочного раствора**, плотно закрыть крышки, осторожно промыть осадок, переворачивая пробирки 3–5 раз.

XI. Центрифугировать в течение **1 мин** при **12 000 об/мин**.

XII. Не задевая осадок аккуратно **удалить надосадочную жидкость**, используя отдельный наконечник для каждой пробы. Для наилучшего удаления надосадочной жидкости рекомендуется: дать пробе постоять при комнатной температуре в течение 30–60 с и отобрать отстоявшуюся надосадочную жидкость повторно.

XIII. Инкубировать пробирки с открытыми крышками в термостате в течение **5 мин** при температуре **65 °С** для подсушивания осадка.

XIV. Добавить в пробирки по **50 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе. При необходимости, допускается увеличение объема Элюирующего раствора до 150 мкл.

XV. Инкубировать пробы в термостате в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом перемешивании. Допускается краткосрочное перемешивание на вортексе.

XVI. Центрифугировать пробирки в течение **1 мин** при **12 000 об/мин**. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XVII. Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртРНК экстракт» осуществляется при температуре +2 – +8 °С на протяжении всего срока годности или при температуре 25 – 37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртРНК экстракт» транспортируют любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртРНК экстракт» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +8 °С.

Срок годности комплекта реагентов «АртРНК экстракт» – 12 месяцев с даты изготовления.