

## **МЕТОДИКА ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК из ДНК-содержащих вирусов плазмы крови с использованием набора реагентов «ДНК-экспресс кровь»**

Исследуемым материалом для анализа является плазма или сыворотка из цельной венозной крови.

### **1. Взятие, доставка и хранение клинического материала.**

2 мл венозной крови собрать в одноразовую пластиковую пробирку с 200 мкл раствора антикоагулянта (0,05М раствор ЭДТА или 4% раствор цитрата натрия. Использовать гепарин строго не рекомендуется!).

**Внимание!** При использовании для забора крови вакуумных пробирок с ЭДТА или цитратом натрия дополнительное внесение антикоагулянта не требуется. При этом объем крови, необходимый для исследования, заранее маркируется на пробирке в соответствии с количеством антикоагулянта, помещенного в пробирку.

Неохлажденные пробы хранить при +4...+8°C - не более 1 суток; *не замораживать!*

1. В пробирку типа «Эппендорф» внести 1 мл цельной крови. Если кровь расслоилась в процессе хранения, то перед внесением ее необходимо перемешать до однородности.
2. Закрывать пробирку и центрифугировать со скоростью 3000 об/мин в течение 5 минут при комнатной температуре. После центрифугирования кровь разделится на плазму и форменные элементы. На поверхности осадка форменных элементов расположен тонкий слой лейкоцитов.
3. Аккуратно, не захватив лейкоциты, перенести плазму в чистую пробирку.

**Внимание!** Сыворотку или плазму отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 2-6 часов. В случае необходимости сохранения образцов для исследования сыворотку или плазму хранить при температуре 2..4°C не более 72-х часов, для более длительного хранения заморозить при -20°C. Замороженная сыворотка или плазма может храниться в течение 1 месяца.

### **2. Выделение ДНК ДНК-содержащих вирусов**

1. Свежую или полностью размороженную сыворотку или плазму крови тщательно перемешать на вортексе в течение 10 секунд.
2. Осадить капли на микроцентрифуге.
3. Внести 200 мкл сыворотки или плазмы крови в заранее приготовленную пробирку с 200 мкл реагента «ДНК-экспресс-кровь».
4. Тщательно перемешать импульсным вортексированием 10 секунд.
5. Осадить капли на микроцентрифуге.
6. Поместить в **предварительно прогретый до 98°C** термостат и инкубировать при **98°C** 25 минут.
7. Центрифугировать при 12-13 тыс.об./мин. при комнатной температуре в течение 1 минуты.
8. Супернатант использовать в качестве исследуемого образца ДНК для постановки амплификации.

Обработанные таким образом пробы хранить при температуре -20°C в течение двух недель.