

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

комплекта реагентов для экстракции ДНК/РНК из биологического
материала

АмплиСенс[®] МАГНО-сорб-М

Только для исследовательских и иных немедицинских целей

АмплиСенс[®]



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6
тел. (495) 974 9642, e-mail: amplisens@pcr.ru



Только для исследовательских
и иных немедицинских целей

ОГЛАВЛЕНИЕ

НАЗНАЧЕНИЕ	3
ПРИНЦИП МЕТОДА	3
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ	4
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	4
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ	6
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	6
СОСТАВ	7
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	7
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	11
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	11
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	12

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО	– экзогенный внутренний контрольный образец
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	– нуклеиновые кислоты
ОК	– отрицательный контроль экстракции
ОКО	– отрицательный контрольный образец
ОТ	– обратная транскрипция
ПК	– положительный контроль экстракции
ПКО	– положительный контрольный образец
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РНК	– рибонуклеиновая кислота
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	– Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект реагентов АмплиСенс® МАГНО-сорб-М не является медицинским изделием. Комплект реагентов предназначен для экстракции ДНК/РНК из биологического материала от животных (плазма/сыворотка крови, мазки со слизистых оболочек, тканевой материал, фекалии, ректальные мазки, молоко, сперма) для последующего исследования методом обратной транскрипции (ОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Объем исследуемого образца для экстракции: 200 мкл.

Допускается экстракция НК из других видов биологического материала и объемов исследуемого образца, в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Информацию о порядке взятия, условиях транспортирования и хранения исследуемого материала, необходимости и порядке его подготовки к экстракции ДНК/РНК смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследуемые образцы обрабатываются лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики (магнитного сорбента), в результате чего происходит деструкция клеточных мембран, вирусных оболочек и других биополимерных комплексов и высвобождение нуклеиновых

кислот (НК) и клеточных компонентов. Растворенная ДНК/РНК связывается с частицами сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются с отмывкой после осаждения сорбента с помощью магнитной силы. При последующем добавлении к магнитному сорбенту буфера для элюции происходит переход НК в раствор с поверхности сорбента, который затем отделяется от раствора НК магнитной силой.

В результате указанной процедуры получается высокоочищенный препарат ДНК/РНК, свободный от ингибиторов реакции амплификации, что обеспечивает высокую аналитическую чувствительность ПЦР-исследования.

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

Форма 1: АмплиСенс[®] МАГНО-сорб-М вариант 100

Форма 1 рассчитана на экстракцию ДНК/РНК из 100 проб, включая контроли.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

Комплект реагентов предназначен для одnorазового применения для проведения экстракции ДНК/РНК из указанного количества проб (см. раздел «Формы комплектации»).

Комплект реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять комплект реагентов строго по назначению.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75 %.
- Допускать к работе с комплектом реагентов только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории в установленном порядке.
- Не использовать комплект реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать комплект реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не использовать комплект реагентов по истечении срока годности.
- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен. При аварийных ситуациях возможно следующее:

- раздражение слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц,
- раздражение кожи у чувствительных лиц,
- аллергическая реакция,
- вред при вдыхании,
- вред при приеме внутрь.

При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.

Сведения о безопасности комплекта реагентов и Листы

безопасности реагентов (SDS – safety data sheet) доступны по запросу.

СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку¹, биологический материал, а также материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

1. Одноразовые полипропиленовые, плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 и до 1000 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема до 200 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
4. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
5. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл (например, Promega («Промега»), США, или аналогичный).
6. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А (например, «БВп-01-«Ламинар-С»-1,2», ЗАО «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный).
7. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
8. Термостат или термостат-шейкер для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С (например, SIA Biosan,

¹ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

- Латвия, или аналогичный).
9. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (например, «ОМ-1», ООО «Утес», Россия, или аналогичный).
 10. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
 11. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
 12. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки.
 13. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

СОСТАВ

АмплиСенс® МАГНО-сорб-М вариант 100 – комплект реагентов для экстракции ДНК/РНК из биологического материала – **включает:**

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Лизирующий раствор МАГНО-сорб	Прозрачная жидкость от бесцветного до жёлтого или розового цвета ²	70	1 флакон
Компонент А	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
Раствор для отмывки 5	Прозрачная жидкость от бесцветного до жёлтого или розового цвета ²	60	1 флакон
Раствор для отмывки 4	Прозрачная бесцветная жидкость	60	1 флакон
Магнетизированная силика	Суспензия магнитных частиц	1,0	2 пробирки
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1,25	8 пробирок

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

ВНИМАНИЕ! Для работы с ДНК/РНК необходимо использовать только одноразовые пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free.

1. **Лизирующий раствор МАГНО-сорб** и **раствор для отмывки 5** прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов, магнетизированную силику ресуспендировать на вортексе.

ВНИМАНИЕ! Лизирующий раствор МАГНО-сорб имеет резкий

² При хранении лизирующего раствора МАГНО-сорб и раствора для отмывки 5 при температуре ниже 20 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

запах. Работу проводить в ламинарном боксе.

2. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл с плотно закрывающимися крышками (включая контроли экстракции, если они предусмотрены для проведения исследования), промаркировать их.
3. В отдельной пробирке смешать из расчета на один образец: **10 мкл ВКО** (если он предусмотрен для проведения исследования), **10 мкл компонента А** и **20 мкл магнетизированной силики**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас (см. табл. 1).

Таблица 1

Количество образцов для экстракции ДНК/РНК	ВКО, мкл	Компонент А, мкл	Магнетизированная силика, мкл
6	70	70	140
12	130	130	260
18	190	190	380
24	250	250	500

Примечание – Допускается изменение объема ВКО в соответствии инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

4. Внести в пробирки по **40 мкл** тщательно ресуспендированной смеси **ВКО, компонента А и магнетизированной силики**.
5. Внести в пробирки по **600 мкл** лизирующего раствора **МАГНО-сорб**.
6. Добавить в каждую пробирку **200 мкл исследуемого образца**, используя для каждого образца отдельный наконечник с фильтром, и перемешать на вортексе.

Примечание – Допускается изменение объема образца в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

7. В пробирку отрицательного контроля (ОК) экстракции внести **200 мкл ОКО**, в пробирку положительного контроля (ПК) экстракции внести **180 мкл ОКО** и **20 мкл** соответствующего **ПКО** (если они предусмотрены для проведения исследования). Плотно закрыть крышки и тщательно перемешать на вортексе.

Примечание – Допускается изменение объемов ОКО и ПКО в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов

для проведения амплификации.

8. Инкубировать пробирки при температуре **60 °C** в течение **10 мин**, периодически встряхивая на вортексе.

9. Перемешать содержимое пробирок, кратким центрифугированием осадить капли. Поставить пробирки в магнитный штатив. Инкубировать **5 мин**.

Примечание – Необходимо открыть крышки до постановки в магнитный штатив, если в магнитном штативе их неудобно/невозможно открыть без взмучивания сорбента.

10. Не извлекая пробирки из магнитного штатива, осторожно удалить надосадочную жидкость по внутренней стенке пробирки, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.

11. Добавить в пробирки по **500 мкл раствора для отмывки 5**, плотно закрыть крышки.

Примечание – Необходимо поставить пробирки в обычный штатив, если в магнитном штативе неудобно/невозможно плотно закрыть крышки.

12. Ресуспендировать магнетизированную силику перемешиванием на вортексе, а затем осадить капли кратким центрифугированием.

13. Поставить пробирки в магнитный штатив на **5 мин**.

14. Удалить надосадочную жидкость как описано выше.

15. Добавить в пробирки по **500 мкл раствора для отмывки 4**, плотно закрыть крышки.

16. Ресуспендировать магнетизированную силику перемешиванием на вортексе, а затем осадить капли кратким центрифугированием.

17. Поставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

18. Полностью удалить надосадочную жидкость как описано выше.

19. Высушить магнетизированную силику, поместив пробирки с открытыми крышками в термостат с температурой **60 °C** на **5 мин**.

20. Добавить в пробирки по **70 мкл буфера для элюции**, закрыть крышки и перемешать на вортексе. Допускается увеличение объема элюции до 100 мкл.

21. Поместить пробирки в термостат при температуре **60 °C** на **5 мин**, через 2 мин перемешать на вортексе.

22. Осадить капли кратким центрифугированием и поставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин.**

Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК/РНК.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных ДНК/РНК осуществляется, не снимая пробирки с магнитного штатива.

ДНК/РНК-пробы не рекомендуется хранить дольше 30 мин при температуре от 2 до 8 °С. Очищенная ДНК/РНК может храниться при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение недели и при температуре не выше минус 68 °С в течение года. Для этого необходимо, не захватывая сорбент, перенести надосадочную жидкость в стерильную пробирку.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 15 мес. Комплект реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, если в инструкции не указано иное.

Транспортирование. Комплект реагентов транспортировать при температуре от 2 до 25 °С.

Хранение. Комплект реагентов хранить при температуре от 2 до 25 °С.












ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик комплекта реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество комплекта реагентов направлять по адресу 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: obtk@pcr.ru³.

³ Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ

	Номер по каталогу		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Код партии		Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов
	Только для исследовательских и иных немедицинских целей		Использовать до
	Дата изменения		Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон		Дата изготовления
	Изготовитель		