ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

Регистрационное удостоверение
№ ФСР 2010/08696 от 25 октября 2016 года

Служба клиентской поддержки:
8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).
E-mail: hotline@dna-technology.ru,
www.dna-technology.ru

180-6 2023-04-14

Комплект реагентов для выделения ДНК

Формы комплектации:

ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА

1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Настоящая инструкция распространяется на комплект реагентов для выделения ДНК, далее по тексту комплект реагентов.

1.2 Комплект реагентов для выделения ДНК предназначен для получения препарата ДНК из биологического материала (таблица 1).

Комплектация ПРОБА-ГС-ПЛЮС предназначена для получения большего объёма ДНК (300 мкл) по сравнению с комплектацией ПРОБА-ГС (100 мкл) с целью проведения в дальнейшем большего числа ПЦР–исследований.

Комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА предназначена для получения ДНК с целью последующего проведения генетических исследований выделенной ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

1.3 Комплект реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав комплекта реагентов

Компонент	Количество					
	ПРОБА-ГС		**ПРОБА-ГС-ПЛЮС**		**ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА**	
• Лизирующий раствор	15 мл	1 флакон	7,5 мл	1 флакон	7,2 мл	1 флакон
• Сорбент	1,0 мл	2 пробирки	1,0 мл	1 пробирка	960 мкл	1 пробирка
• Промывочный раствор №1	20 мл	1 флакон	10 мл	1 флакон	19,2 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №2	20 мл	1 флакон	10 мл	1 флакон	9,6 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №3	20 мл	1 флакон	10 мл	1 флакон	9,6 мл	1 флакон
• Элюирующий раствор	10 мл	1 флакон	15 мл	1 флакон	14,4 мл	1 флакон

2.2 Количество исследуемых образцов. Комплект реагентов предназначен для одноразового применения и рассчитан на выделение ДНК из 100/50/48 анализируемых образцов (включая отрицательные контрольные образцы) (таблица 1).

Таблица 1

Комплектация	**ПРОБА-ГС**	**ПРОБА-ГС-ПЛЮС**	**ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА**
Каталожный номер	REF **Р-003/1**	REF **Р-003/2**	REF **Р-023/4**
Материал для исследования	Мокрота, плазма крови, слюна, моча, сперма, секрет предстательной железы, ликвор, молочная сыворотка, измельченные ткани, соскобы эпителиальных клеток с задней стенки глотки, из уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища, а также материал, в котором присутствует значительное количество ингибирующих примесей		Периферическая кровь
Количество определений	100	50	48

2.3 Время проведения выделения ДНК – один час.

3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Подготовка к выделению ДНК и выделение ДНК из образцов биологического материала должны проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические ПЦР исследования клинического материала с соблюдением требований ГОСТ Р 52905-2007, 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», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные.

При использовании комплекта реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями санитарных правил и норм 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».

Примечание - Комплект реагентов **не содержит** материалов биологического происхождения, веществ, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

4 МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

При работе с комплектом реагентов для выделения ДНК требуются следующие оборудование и материалы:

- бокс биологической безопасности II класса;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 65 °С до 98 °С;
- центрифуга с RCF(g) не ниже 12000;
- микроцентрифуга-вортекс;
- холодильник бытовой с морозильной камерой;
- насос с колбой–ловушкой для удаления надосадочной жидкости;
- пробирки одноразовые пластиковые объёмом 1,5 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;
- дозаторы электронные с адаптером и/или дозаторы механические переменного объёма одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 200 мкл, 1000 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- транспортная среда для биопроб и/или физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный.

При выделении НК[1] из плазмы:

- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА или цитратом натрия.

При выделении НК из мокроты (способ 1):

- 10% раствор трёхзамещенного фосфорнокислого натрия х 12Н2О;
- 1М раствор HCl;
- 5% раствор хлорамина;
- вода дистиллированная.

При выделении НК из мокроты (способ 2): муколизин.

5 ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

5.1 Периферическая кровь

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 2,0 или 4,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку 2–3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

5.2 Плазма крови

5.2.1 Центрифугируйте пробирки с кровью при RCF(g) 900 в течение 20 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

5.2.2 После центрифугирования отберите полуавтоматическим дозатором верхнюю фракцию (плазма) и перенесите в отдельную пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

5.3 Мокрота

5.3.1 Способ 1

5.3.1.1 Примерно 500 мкл биологического материала перенесите в стерильную посуду и плотно закройте крышкой.

5.3.1.2 Добавьте к пробе мокроты равный объём 10% трехзамещённого фосфорнокислого натрия х 12Н2О, плотно закройте крышкой и интенсивно встряхните.

5.3.1.3 Смесь инкубируйте при температуре 37 °С в течение 18–24 часов, затем нейтрализуйте 1М HCl до pH 6,8–7,4.

5.3.1.4 Центрифугируйте при RCF(g) 100 в течение 20 мин.

5.3.1.5 Слейте надосадочную жидкость в ёмкость с 5% раствором хлорамина для обеззараживания.

5.3.1.6 Добавьте к осадку 500 мкл дистиллированной воды, перемешайте пипетированием и перенесите в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

5.3.1.7 Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 10 мин.

5.3.1.8 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.3.2 Способ 2

5.3.2.1 В контейнер с образцом добавьте муколизин в соотношении 5:1 (пять частей муколизина к одной части мокроты), ориентируясь по градуировке контейнера.

5.3.2.2 Закройте крышку контейнера, встряхните содержимое и инкубируйте 20–30 мин при комнатной температуре, каждые 2–3 мин встряхивая контейнер.

5.4 Слюна, ликвор, синовиальная жидкость

5.4.1 Слюну, ликвор, синовиальную жидкость (примерно 500 мкл) соберите в стерильную посуду и плотно закройте крышкой.

5.4.2 Перенесите 500 мкл материала в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

5.4.3 Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 10 мин.

5.4.4 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.4.5 Добавьте к осадку 500 мкл физиологического раствора стерильного.

5.4.6 Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 10 мин.

5.4.7 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.5 Моча

5.5.1 Порцию утренней мочи (примерно 50 мл) соберите в стерильную посуду и плотно закройте крышкой.

5.5.2 Перенесите 1,0 мл материала в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

5.5.3 Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 10 мин.

5.5.4 Наиболее полно удалите надосадочную жидкость.

5.5.5 Добавьте к осадку 1,0 мл физиологического раствора стерильного.

---

[1] НК – нуклеиновые кислоты.

5.5.6 Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 10 мин.
5.5.7 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.6 Сперма, секрет предстательной железы

5.6.1 Перенесите 20–30 мкл жидкого материала пипеткой в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл с консервантом (или с 500 мкл физиологического раствора стерильного).
5.6.2 Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 10 мин.
5.6.3 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.7 Соскобы эпителиальных клеток

5.7.1 Перенесите соскоб эпителиальных клеток (с задней стенки глотки, из уретры, заднего свода влагалища, цервикального канала и др.) с помощью одноразового стерильного зонда в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл с транспортной средой (или с 500 мкл физиологического раствора стерильного), аккуратно перемешайте. Извлеките зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к стенке пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости. Полностью удалите зонд из пробирки. Пробирку плотно закройте.
5.7.2 Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 10 мин.
5.7.3 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).
Полученный материал готов для выделения ДНК.

6 ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

П р и м е ч а н и е - В лизирующем растворе и в промывочном растворе №1 допускается выпадение осадка; перед началом работы его необходимо растворить нагреванием флакона при 50 °С в течение 15–20 мин.

6.1 Промаркируйте для каждого исследуемого образца и отрицательного контрольного образца (К-) по одной пробирке объёмом 1,5 мл.

П р и м е ч а н и е - Для образцов, прошедших предобработку с получением осадка и надосадочной жидкости (см. 5: мокрота – способ 1, слюна, моча, ликвор, сперма, секрет предстательной железы, соскобы эпителиальных клеток), маркируются пробирки с подготовленным для исследования материалом в объёме 50 мкл.

6.2 Приготовьте смесь лизирующего раствора с сорбентом. Смешайте в отдельной пробирке:

- 150 х (N+1) мкл лизирующего раствора;
- 20 х (N+1) предварительно ресуспендированного сорбента,

где N + 1 – количество анализируемых образцов с учётом «К-» (N) с запасом на один образец.

6.3 Добавьте в каждую пробирку по 170 мкл полученной смеси.

6.4 Внесите по 50 мкл подготовленного биоматериала (комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС) или по 100 мкл периферической крови (комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) в пробирки для исследуемых образцов (за исключением пробирок с образцами, прошедшими предобработку с получением осадка (см. 6.1), и пробирки «К-») (таблица 2).

6.5 В пробирку, маркированную «К-», внесите 50 мкл (комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС) или 100 мкл (комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) транспортной среды или физиологического раствора стерильного (таблица 2). Плотно закройте крышки пробирок, встряхните на вортексе в течение 3–5 с.

6.6 Термостатируйте пробирки в течение 20 мин (комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС) или 10 мин (комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) при 50 °С (таблица 2).

6.7 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 - 16000 в течение одной минуты.

6.8 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

6.9 Добавьте к осадку 200 мкл (комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС) или 400 мкл (комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) промывочного раствора №1 и встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с (таблица 2).

6.10 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 - 16000 в течение одной минуты.

6.11 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

6.12 Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №2 и встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с.

6.13 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 - 16000 в течение одной минуты.

6.14 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

6.15 Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №3 и встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с.

6.16 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 - 16000 в течение одной минуты.

6.17 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

6.18 Откройте крышки пробирок и высушите осадок при 50 °С в течение 5 мин.

6.19 Добавьте к осадку 100 мкл (комплектация ПРОБА–ГС) или 300 мкл (комплектации ПРОБА–ГС–ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) элюирующего раствора и встряхните пробирки на вортексе в течение 5–10 с.

6.20 Прогрейте пробирки при 50 °С в течение 5 мин (таблица 2).

6.21 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 - 16000 в течение одной минуты. Если образец предполагается хранить более 7 суток, перенесите надосадочную жидкость в новую пробирку.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР–амплификации. Полученный препарат ДНК можно хранить до 7 суток при температуре от 2 °С до 8 °С.

Перед использованием препарата ДНК для постановки ПЦР необходимо повторить 6.20 — 6.21.

Более 7 суток препарат ДНК следует хранить при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С.

Срок хранения - до 6 месяцев (комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС) или до одного года (комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) (таблица 2).

7 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

7.1 Транспортирование

Транспортирование комплекта реагентов осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 °С до 8 °С.

Комплекты реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

7.2 Хранение

Комплект реагентов для выделения ДНК следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности комплекта реагентов.

П р и м е ч а н и е – При хранении допускается выпадение небольшого осадка в лизирующем растворе и в промывочном растворе №1.

Комплекты реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

7.3 Указания по эксплуатации

Комплект реагентов должен применяться согласно действующей версии утверждённой инструкции по применению. Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению комплекта реагентов.

После вскрытия упаковки компоненты комплекта реагентов следует хранить при следующих условиях:

- компоненты комплекта реагентов следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности комплекта реагентов.
- лизирующий раствор и промывочный раствор №1 следует хранить в защищённом от света месте в течение всего срока годности комплекта реагентов при температуре от 2 °С до 8 °С.

8 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

8.1 При использовании комплекта реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.

8.2 Комплекты реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

9 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

9.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие комплекта реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

9.2 Срок годности комплекта реагентов - 6 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

10 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

Служба клиентской поддержки: 8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).

E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru.

Адрес производителя:

ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, 142281, Московская обл., г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 20.

Место производства:

Код изготовителя указан на этикетке (см. последнюю цифру в серии набора):

1. ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, 142281, Московская обл., г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 20.
2. ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, 117246, Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

11 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ

IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		Дата изготовления	Σ	Содержимого достаточно для проведения *n* тестов
	Предел температуры		Обратитесь к инструкции по применению	REF	Номер по каталогу
	Использовать до		Изготовитель	LOT	Код партии (серии)
	Не допускать воздействия солнечного света	NON STERILE	Нестерильно		

Таблица 2

Комплектация	**ПРОБА-ГС**	**ПРОБА-ГС-ПЛЮС**	**ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА**
Необходимый объём исследуемого образца и отрицательного контрольного образца для проведения выделения ДНК	50 мкл		100 мкл
Время термостатирования образцов в лизирующем растворе	20 мин		10 мин
Количество промывочного раствора №1 для выделения одного образца	200 мкл		400 мкл
Количество элюирующего раствора для выделения одного образца	100 мкл	300 мкл	
Срок хранения полученной ДНК при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С	до 6 месяцев		до одного года