



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для неинвазивного пренатального
ДНК-скрининга анеуплоидий плода по крови матери
методом высокопроизводительного секвенирования NGS

АнеуНИПС

Регистрационный номер
Г004-00110-00/05087844 от 21.05.2026

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

1	ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....	4
2	ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	6
2.1	Состав набора реагентов.....	6
2.2	Количество анализируемых образцов.....	12
2.3	Принцип метода	12
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	13
3.1	Предел обнаружения	13
3.2	Аналитическая специфичность	13
3.3	Интерферирующие вещества	14
3.4	Показатели согласия	14
3.5	Внутрисерийная и межсерийная воспроизводимость.....	14
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	14
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	18
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	22
6.1	Материал для исследования	22
6.2	Взятие материала на исследование.....	22
6.3	Транспортирование и хранение образцов крови.....	23
6.4	Получение плазмы крови	23
7	ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	24
7.1	Общие требования	24
7.2	Выделение внеклеточной ДНК из биологического материала.....	25
7.3	Подготовка библиотек фрагментов ДНК. Комплектации С.48, Р.48, L.48	30
7.4	Подготовка библиотек фрагментов ДНК. Комплектации С.96, Р.96, L.96	40
8	ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВА И КАЧЕСТВА БИБЛИОТЕКИ.....	47
9	ПРОВЕДЕНИЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ.....	47
10	АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ.....	48
11	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	48
12	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	54
13	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	54
14	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	54
15	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	55
16	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ И НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	56
	ПРИЛОЖЕНИЕ А	58
	ПРИЛОЖЕНИЕ Б	59
	ПРИЛОЖЕНИЕ В	60

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

NGS	- от англ. next generation sequencing
RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
SNP	- от англ. single nucleotide polymorphism
вкДНК	- внеклеточная дезоксирибонуклеиновая кислота
ДИ	- доверительный интервал
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
К-	- отрицательный контрольный образец
ЛИС	- лабораторная информационная система
НИПС	- неинвазивный пренатальный скрининг
ПО	- программное обеспечение
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
Рид	- от англ. read, отдельное прочтение фрагмента ДНК
РНКазы	- рибонуклеазы
ХА	- хромосомные аномалии
ЭДТА	- этилендиаминтетраацетат

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование изделия: Набор реагентов для неинвазивного пренатального ДНК-скрининга анеуплоидий плода по крови матери методом высокопроизводительного секвенирования NGS (АнеуНИПС), далее по тексту – набор реагентов.

1.2 Назначение: набор реагентов предназначен для неинвазивного ДНК-скрининга беременных женщин с целью обнаружения хромосомных аномалий плода – анеуплоидий по аутосомам 13, 18, 21, половым хромосомам X и Y с помощью исследования внеклеточной ДНК плода методом парноконцевого полногеномного высокопроизводительного секвенирования (NGS) с использованием программного обеспечения «СекВарио АнеуНИПС». В качестве биологического материала используют периферическую кровь беременной женщины.

1.3 Функциональное назначение: скрининг беременных женщин.

1.4 Показания к проведению исследования: оценка риска наличия анеуплоидий и хромосомных аномалий у плода.

1.5 Противопоказания к проведению исследования¹: многоплодная беременность (трёхплодная и более)², наличие показаний к инвазивной пренатальной диагностике при отсутствии противопоказаний к ней.

1.6 Популяционные и демографические аспекты: набор реагентов предназначен для скрининга беременных женщин с 10 недели³ беременности.

1.7 Факторы, влияющие на результаты¹: материнский и плацентарный мозаицизм; особенности кариотипа матери (например, наличие кариотипа 47,XXX), мозаицизм в соматических клетках у плода; недавнее переливание аллогенной крови у матери; операции по трансплантации органов или костного мозга у матери; иммунотерапия и терапия аллогенными клетками у матери; опухолевые заболевания (в т.ч. доброкачественные) у матери; индекс массы тела более 30 кг/м² у матери; синдром «исчезающего близнеца». Также на результат исследования могут влиять недавние хирургические вмешательства у матери; тяжелые аутоиммунные и воспалительные процессы у матери; приём матерью некоторых лекарственных препаратов.

При двуплодной беременности возможно проведение анализа с использованием набора реагентов АнеуНИПС. Однако в этом случае определение риска анеуплоидий по половым хромосомам не проводится.

Исследование анеуплоидий с использованием набора реагентов АнеуНИПС может быть проведено при суррогатном материнстве и беременности после ЭКО с донорскими ооцитами.

¹ – приведены в соответствии с методическими рекомендациями «Проведение неинвазивного пренатального ДНК-скрининга анеуплоидий плода по крови матери (НИПС) методом высокопроизводительного секвенирования» (doi <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2024.51>)

² – в подобных случаях проведение исследования допускается в научных целях

³ – акушерский срок

Исследование анеуплоидий с использованием набора реагентов АнеуНИПС не предназначено для выявления сбалансированных структурных аномалий хромосом, полиплоидии, моногенных и других генетических заболеваний плода, не связанных с анеуплоидиями.

Исследование анеуплоидий с использованием набора реагентов АнеуНИПС не рекомендуется использовать для выявления хромосомных микроделеций / микродупликаций в связи с недостаточной валидированностью.

1.8 Область применения: набор реагентов может быть использован в клинко-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

1.9 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории с использованием методов высокопроизводительного секвенирования.

Результаты, полученные при использовании набора реагентов, следует рассматривать и интерпретировать врачу-генетику или врачу-репродуктологу в сочетании с данными анамнеза и других инструментальных и лабораторных исследований.

1.10 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав набора реагентов

Набор реагентов выпускается в следующих вариантах исполнения:

	Комплектация С.48 ¹	Комплектация Р.48	Комплектация L.48	Комплектация С.96 ¹	Комплектация Р.96	Комплектация L.96
Количество анализируемых образцов	48			96		
Способ дозирования	ручное			автоматизированное		
Комплект реагентов для выделения вкДНК	•	•	–	•	•	–
Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК	•	•	•	•	•	•
Индексы ²	•	–	–	•	–	–
Комплект реагентов для секвенирования	•	–	–	•	–	–
Дистрибутив ³	•	•	•	•	•	•

Примечания к таблице:

¹ – варианты исполнения Комплектация С.48 и Комплектация С.96 используются только совместно с секвенатором NextSeq™ 550Dx, «Иллюмина Инк», США, РУ № РЗН 2021/13216

² – в вариантах исполнения Комплектация С.48 и Комплектация С.96 в состав входят индексы для идентификации библиотек нуклеиновых кислот (Индексы Set S08 и Индексы Set P12 соответственно). Для набора реагентов в других вариантах исполнения необходимо использовать Набор индексов для идентификации библиотек нуклеиновых кислот (Индексы LIC), ООО «ДНК-Технология ТС», России

³ – Дистрибутив с программным обеспечением «СекВарио АнеуНИПС» (версия 1.0)

Расшифровка обозначений:

«•» – входит в состав комплектации набора реагентов

«–» – не входит в состав комплектации набора реагентов

REF S6-H515-N4, комплектация C.48				
Наименование компонента	Внешний вид	Количество	Номинальный объём компонента	Часть
1. Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК, в составе:				
Протеиназа К	Высушенная субстанция белого цвета	1 флакон	35 мг	1 из 9
Буфер для разведения протеиназы	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	2,5 мл	
Магнитные частицы VANTS Particles G	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	2,0 мл	
Буфер W2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	25 мл	2 из 9
Буфер В	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	45 мл	
Буфер SDS	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	6,0 мл	
Буфер W1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	40 мл	
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл	
2. Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК, в составе:				
Смесь для репарации концов ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	400 мкл	3 из 9
Фермент-KFR	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	50 мкл	
Фермент-PNK	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	50 мкл	
Смесь для аденилирования	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	225 мкл	
Фермент-KFEx-	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	25 мкл	
Смесь для лигирования	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	450 мкл	
Фермент-LIG	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	50 мкл	
Смесь для амплификации библиотек ИЛМ	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	475 мкл	
Фермент-POL	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	25 мкл	4 из 9
Буфер для разведения ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	4,5 мл	
Раствор МЧ (8,0)	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	8,0 мл	
Элюирующий раствор TEL	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 4,5 мл	
Раствор МЧ (3,2)	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	3,2 мл	5 из 9
Индексы Set S08	Сухое пятно светло-голубого цвета	6 стрипов по 8 пробирок		
3. Комплект реагентов для секвенирования, в составе:				
Картридж с реагентами	Резервуар, заполненный реактивами	1 шт.	–	6 из 9
Буфер HT1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	12 мл	7 из 9
Проточная ячейка	Ёмкость с проточной ячейкой в буферном растворе	1 шт.	–	8 из 9
Картридж с буфером	Резервуар, заполненный буфером	1 шт.	–	9 из 9
4. Дистрибутив с программным обеспечением «СекВарио АнеуНИПС» (версия 1.0) – 1 шт.				

REF S6-H518-P9, комплектация C.96				
Наименование компонента	Внешний вид	Количество	Номинальный объём компонента	Часть
1. Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК, в составе:				
Протеиназа К	Высушенная субстанция белого цвета	1 флакон	35 мг	1 из 15
Буфер для разведения протеиназы	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	2,5 мл	
Магнитные частицы VANTS Particles G	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	2,0 мл	
Протеиназа К	Высушенная субстанция белого цвета	1 флакон	35 мг	2 из 15
Буфер для разведения протеиназы	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	2,5 мл	
Магнитные частицы VANTS Particles G	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	2,0 мл	
Буфер W2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	25 мл	3 из 15
Буфер В	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	45 мл	
Буфер SDS	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	6,0 мл	
Буфер W1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	40 мл	
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл	4 из 15
Буфер W2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	25 мл	
Буфер В	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	45 мл	
Буфер SDS	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	6,0 мл	
Буфер W1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	40 мл	
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл	
2. Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК, в составе:				
Смесь для репарации концов ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 400 мкл	5 из 15
Фермент-KFR	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 50 мкл	
Фермент-PNK	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 50 мкл	
Смесь для аденилирования	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 225 мкл	
Фермент-KFEx-	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 25 мкл	
Смесь для лигирования	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 450 мкл	
Фермент-LIG	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 50 мкл	
Смесь для амплификации библиотек ИЛМ	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 475 мкл	
Фермент-POL	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 25 мкл	6 из 15
Буфер для разведения ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 4,5 мл	
Картридж с реагентами № 1	Резервуар, заполненный реагентами	2 шт.	–	
Картридж с реагентами № 2	Резервуар, заполненный реагентами	2 шт.	–	
Картридж с реагентами № 3	Резервуар, заполненный реагентами	2 шт.	–	7 из 15
Индексы Set P12	Сухое пятно светло-голубого цвета	1 микропланшет 96 лунок		
3. Комплект реагентов для секвенирования, в составе:				
Картридж с реагентами	Резервуар, заполненный реагентами	1 шт.	–	8 из 15
Картридж с реагентами	Резервуар, заполненный реагентами	1 шт.	–	9 из 15
Буфер HT1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	12 мл	10 из 15
Буфер HT1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	12 мл	11 из 15
Проточная ячейка	Ёмкость с проточной ячейкой в буферном растворе	1 шт.	–	12 из 15
Проточная ячейка	Ёмкость с проточной ячейкой в буферном растворе	1 шт.	–	13 из 15
Картридж с буфером	Резервуар, заполненный буфером	1 шт.	–	14 из 15
Картридж с буфером	Резервуар, заполненный буфером	1 шт.	–	15 из 15
4. Дистрибутив с программным обеспечением «СекВарио АнеуНИПС» (версия 1.0) – 1 шт.				

REF S6-H514-N4, комплектация Р.48				
Наименование компонента	Внешний вид	Количество	Номинальный объём компонента	Часть
1. Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК, в составе:				
Протеиназа К	Высушенная субстанция белого цвета	1 флакон	35 мг	1 из 4
Буфер для разведения протеиназы	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	2,5 мл	
Магнитные частицы VANTS Particles G	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	2,0 мл	
Буфер W2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	25 мл	2 из 4
Буфер В	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	45 мл	
Буфер SDS	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	6,0 мл	
Буфер W1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	40 мл	
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл	
2. Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК, в составе:				
Смесь для репарации концов ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	400 мкл	3 из 4
Фермент-KFR	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	50 мкл	
Фермент-PNK	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	50 мкл	
Смесь для аденилирования	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	225 мкл	
Фермент-KFEx-	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	25 мкл	
Смесь для лигирования	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	450 мкл	
Фермент-LIG	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	50 мкл	
Смесь для амплификации библиотек ИЛМ	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	475 мкл	4 из 4
Фермент-POL	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	25 мкл	
Буфер для разведения ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	4,5 мл	
Раствор МЧ (8,0)	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	8,0 мл	
Элюирующий раствор TEL	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 4,5 мл	
Раствор МЧ (3,2)	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	3,2 мл	
3. Дистрибутив с программным обеспечением «СекВарио АнеуНИПС» (версия 1.0) – 1 шт.				

REF S6-H517-P9, комплектация P.96				
Наименование компонента	Внешний вид	Количество	Номинальный объём компонента	Часть
1. Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК, в составе:				
Протеиназа К	Высушенная субстанция белого цвета	1 флакон	35 мг	1 из 6
Буфер для разведения протеиназы	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	2,5 мл	
Магнитные частицы VANTS Particles G	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	2,0 мл	
Протеиназа К	Высушенная субстанция белого цвета	1 флакон	35 мг	2 из 6
Буфер для разведения протеиназы	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	2,5 мл	
Магнитные частицы VANTS Particles G	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	2,0 мл	
Буфер W2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	25 мл	3 из 6
Буфер В	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	45 мл	
Буфер SDS	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	6,0 мл	
Буфер W1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	40 мл	
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл	
Буфер W2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	25 мл	4 из 6
Буфер В	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	45 мл	
Буфер SDS	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	6,0 мл	
Буфер W1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	40 мл	
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл	
2. Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК, в составе:				
Смесь для репарации концов ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 400 мкл	5 из 6
Фермент-KFR	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 50 мкл	
Фермент-PNK	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 50 мкл	
Смесь для аденилирования	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 225 мкл	
Фермент-KFEx-	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 25 мкл	
Смесь для лигирования	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 450 мкл	
Фермент-LIG	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 50 мкл	
Смесь для амплификации библиотек ИЛМ	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 475 мкл	
Фермент-POL	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 25 мкл	
Буфер для разведения ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 4,5 мл	6 из 6
Картридж с реагентами № 1	Резервуар, заполненный реагентами	2 шт.	–	
Картридж с реагентами № 2	Резервуар, заполненный реагентами	2 шт.	–	
Картридж с реагентами № 3	Резервуар, заполненный реагентами	2 шт.	–	
3. Дистрибутив с программным обеспечением «СекВарио АнеуНИПС» (версия 1.0) – 1 шт.				

REF S6-H513-N4, комплектация L.48				
Наименование компонента	Внешний вид	Количество	Номинальный объём компонента	Часть
1. Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК, в составе:				
Смесь для репарации концов ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	400 мкл	1 из 2
Фермент-KFR	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	50 мкл	
Фермент-PNK	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	50 мкл	
Смесь для аденилирования	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	225 мкл	
Фермент-KFEx-	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	25 мкл	
Смесь для лигирования	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	450 мкл	
Фермент-LIG	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	50 мкл	
Смесь для амплификации библиотек ИЛМ	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	475 мкл	
Фермент-POL	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	25 мкл	2 из 2
Буфер для разведения ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	4,5 мл	
Раствор МЧ (8,0)	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	8,0 мл	
Элюирующий раствор TEL	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 4,5 мл	
Раствор МЧ (3,2)	Прозрачная бесцветная жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 флакон	3,2 мл	
2. Дистрибутив с программным обеспечением «СекВарио АнеуНИПС» (версия 1.0) – 1 шт.				

REF S6-H516-P9, комплектация L.96				
Наименование компонента	Внешний вид	Количество	Номинальный объём компонента	Часть
1. Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК, в составе:				
Смесь для репарации концов ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 400 мкл	1 из 2
Фермент-KFR	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 50 мкл	
Фермент-PNK	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 50 мкл	
Смесь для аденилирования	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 225 мкл	
Фермент-KFEx-	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 25 мкл	
Смесь для лигирования	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 450 мкл	
Фермент-LIG	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 50 мкл	
Смесь для амплификации библиотек ИЛМ	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 475 мкл	
Фермент-POL	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 25 мкл	2 из 2
Буфер для разведения ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 4,5 мл	
Картридж с реагентами № 1	Резервуар, заполненный реактивами	2 шт.	–	
Картридж с реагентами № 2	Резервуар, заполненный реактивами	2 шт.	–	
Картридж с реагентами № 3	Резервуар, заполненный реактивами	2 шт.	–	
2. Дистрибутив с программным обеспечением «СекВарио АнеуНИПС» (версия 1.0) – 1 шт.				

Все компоненты набора реагентов готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

Комплектность:

- Набор реагентов в одном из вариантов исполнения – 1 шт.;
- Дистрибутив с программным обеспечением «СекВарио АнеуНИПС» (версия 1.0) – 1 шт.;
- Инструкция по применению – 1 экз.;
- Руководство пользователя к программному обеспечению – 1 экз.;
- Паспорт – 1 экз.

Дистрибутив с программным обеспечением «СекВарио АнеуНИПС» и руководство пользователя поставляются на электронном носителе (USB-флеш-накопитель) при первой поставке набора реагентов и/или по сети Интернет.

ВНИМАНИЕ! Программное обеспечение «СекВарио АнеуНИПС» предназначено только для совместного применения с набором реагентов АнеуНИПС.

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов комплектаций С.48, Р.48, L.48 рассчитан на исследование до 48 образцов.

Набор реагентов комплектаций С.96, Р.96, L.96 рассчитан на исследование до 96 образцов.

2.3 Принцип метода

Метод: Ферментативные реакции фосфорилирования и лигирования, полимеразная цепная реакция (ПЦР), качественный анализ.

Принцип метода основан на ферментативной реакции фосфорилирования 5' концов ДНК, лигирования дуплексов комплементарных олигонуклеотидов, несущих биоинформатическую метку, с полученной внеклеточной ДНК и амплификации ДНК методом ПЦР.

Исследование с применением набора реагентов АнеуНИПС состоит из следующих этапов:

1. Выделение ДНК.
2. Подготовка библиотек фрагментов ДНК.
 - 2.1. Ферментативная обработка и фосфорилирование концов.
 - 2.2. Присоединение индексов с помощью реакции лигирования.
 - 2.3. Дополнительная амплификация.
3. Проведение высокопроизводительного секвенирования.
4. Анализ результатов с помощью программного обеспечения «СекВарио АнеуНИПС».
 - 4.1. Демультимплексирование и генерация FASTQ файлов данных.

4.2. Анализ FASTQ файлов:

- Определение последовательности ДНК и выравнивание на геном человека.
<https://samtools.github.io/hts-specs/SAMv1.pdf>.
- Фильтрация ПЦР-дубликатов. Подсчет количества ридов на участках фиксированной длины и фильтрация ридов по качеству выравнивания.
<http://samtools.github.io/hts-specs/SAMv1.pdf>.
- Подсчет standard score https://en.wikipedia.org/wiki/Standard_score.
- Фильтрация неуникальных участков генома. GC-коррекция.
- Подсчет значения Z.
- Контроль качества.
- Формирование результата.

В программном обеспечении «СекВарио АнеуНИПС» не используется технология искусственного интеллекта.

В программном обеспечении «СекВарио АнеуНИПС» не осуществляется хранение и обработка персональных данных.

ВНИМАНИЕ! Перед началом выполнения исследования с применением набора реагентов АнеуНИПС персонал клинико-диагностической лаборатории, участвующий в выполнении исследования, должен быть обучен работе с набором реагентов в соответствии с настоящей инструкцией по применению, включая этапы подготовки библиотек, секвенирования, анализа данных с использованием программного обеспечения «СекВарио АнеуНИПС» и интерпретации результатов. Контактные данные службы клиентской поддержки представлены в разделе 17 настоящей инструкции по применению.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения – количество внеклеточной ДНК 0,05 нг/мкл, что соответствует 2,0 нг внеклеточной ДНК человека на библиотеку. При использовании меньшего количества ДНК производитель не гарантирует корректную работу набора реагентов. Фракция фетальной внеклеточной ДНК должна составлять не менее 3,5% при условии прохождения всех контролей качества (минимально необходимая фракция фетальной внеклеточной ДНК для двуплодной беременности 7,0%). В случае если фракция фетальной внеклеточной ДНК составляет менее 3,5% или контроли качества не пройдены, возможно получение ложноположительных/ложноотрицательных результатов. В таком случае результаты теста интерпретируются как невалидные.

3.2 Аналитическая специфичность

На этапе оценки готовой библиотеки из внеклеточной ДНК на капиллярном электрофореze должен определяться пик длиной от 270 до 340 п.н.

После проведения секвенирования ПО «СекВарио АнеуНИПС» должно определить долю ДНК плода (фракция фетальной внеклеточной ДНК) и риск наличия анеуплоидий

по 13, 18, 21, X и Y хромосомам (низкий/высокий). При наличии высокого риска трисомии по другим хромосомам или наличии частичных делеций и дупликаций это также может быть отмечено в заключении по результатам исследования (опционально).

3.3 Интерферирующие вещества

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось ингибирование ПЦР, представлены в таблице ниже.

Вид биоматериала	Интерферирующее вещество	Исследованная концентрация в образце
Эндогенные вещества		
Кровь	Билирубин	684 мкмоль/л
Кровь	Холестерин	13 ммоль/л
Кровь	Триглицериды	37 ммоль/л
Экзогенные вещества		
Кровь	ЭДТА	до 2,0 мг/мл ¹

3.4 Показатели согласия

Процент положительного согласия (Positive Percent Agreement, PPA): 100% (90,51–100).

Процент отрицательного согласия (Negative Percent Agreement, NPA): 100% (98,08–100).

3.5 Внутрисерийная и межсерийная воспроизводимость

Оценка внутрисерийной и межсерийной воспроизводимости набора реагентов была установлена на 48 образцах.

Внутрисерийная воспроизводимость составляет 100% (95% доверительный интервал 92,6–100%).

Межсерийная воспроизводимость составляет 100% (95% доверительный интервал 92,6–100%).

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15190-2023, 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».

Неизвестные образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

При работе с микроорганизмами I–IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с санитарными правилами и нормами СанПиН 3.3686-21.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

¹ – согласно ГОСТ Р 53079.4-2008 (Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа) калия ЭДТА используют в концентрации от 1,2 до 2,0 мг/мл

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

К работе с набором реагентов допускается персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории.

При использовании набора реагентов для предотвращения контаминации этапы выделения ДНК, ПЦР, детекции результатов амплификации и подготовки библиотек фрагментов ДНК следует проводить в отдельных помещениях или тщательно изолированных зонах, снабженных комплектами полуавтоматических дозаторов, халатами и прочими принадлежностями.

При проведении электрофореза запрещается снимать крышку с электрофоретической камеры, если она подключена к источнику питания.

При работе с включенным трансиллюминатором необходимо пользоваться защитным экраном или специальной защитной маской. Выделение вкДНК следует проводить в боксах биологической безопасности II класса. Приготовление реакционной смеси возможно проводить в ПЦР-боксах.

Запрещается перемещение лабораторного оборудования, в том числе дозаторов, штативов, лабораторной посуды, халатов, головных уборов и пр., а также растворов реагентов из одного помещения в другое.

Дозаторы должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Использованные одноразовые расходные материалы (пробирки, наконечники и др.) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор (при необходимости).

Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 минут.

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами и нормами СанПиН 3.3686-21.

ВНИМАНИЕ! Утилизировать отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации, за исключением этапов проведения детекции методом гель-электрофореза и подготовки библиотек, которые проводят в зоне 4 (МУ 1.3.2569-09).

При использовании набора реагентов в клинко-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».

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент комплекта реагентов	Наличие/отсутствие опасного вещества	Указание на риски	Меры предосторожности
Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК			
Смесь для репарации концов ДНК	Нет опасных веществ	–	–
Фермент-KFR	Нет опасных веществ	–	–
Фермент-PNK	Нет опасных веществ	–	–
Смесь для аденилирования	Нет опасных веществ	–	–
Фермент-KFEx-	Нет опасных веществ	–	–
Смесь для лигирования	Нет опасных веществ	–	–
Фермент-LIG	Нет опасных веществ	–	–
Смесь для амплификации библиотек ИЛМ	Нет опасных веществ	–	–
Фермент-POL	Нет опасных веществ	–	–
Буфер для разведения ДНК	Нет опасных веществ	–	–
Раствор МЧ (8,0)	Нет опасных веществ	–	–
Элюирующий раствор TEL	Нет опасных веществ	–	–
Раствор МЧ (3,2)	Нет опасных веществ	–	–
Индексы Set S08, Set P12	Нет опасных веществ	–	–
Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК			
Протеиназа К	Нет опасных веществ	–	–
Буфер для разведения протеиназы	Нет опасных веществ	–	–
Магнитные частицы VANTS Particles G	Нет опасных веществ	–	–
Буфер W2	Нет опасных веществ	–	–
Буфер В	Нет опасных веществ	–	–
Буфер SDS	Додецилсульфат натрия	H302+H332, H313, H315, H318, H335, H412	P301+P330+P312, P302+P352, P305+P351+P338, P332+P311
Буфер W1	Нет опасных веществ	–	–
Буфер для элюции	Нет опасных веществ	–	–
Комплект реагентов для секвенирования			
Картридж с реагентами (ячейка 6)	Формаид	H360	P201, P314
Буфер HT1	Нет опасных веществ	–	–
Проточная ячейка	Нет опасных веществ	–	–
Картридж с буфером	Нет опасных веществ	–	–
Расшифровка обозначений: H302+H332 – Опасно при проглатывании или при вдыхании; H313 – Острая токсичность (кожная); H315 – Вызывает раздражение кожи; H318 – Вызывает серьезные повреждения глаз; H335 – Может вызывать раздражение дыхательных путей; H360 – может нарушать способность к размножению или причинять вред нерождённому ребёнку. Может наносить вред при вдыхании, заглатывании, попадании на кожу или в глаза; H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. P201 – перед использованием пройти инструктаж по работе с данной продукцией; P314 – в случае плохого самочувствия обратиться к врачу, P301+P330+P312 – при проглатывании прополоскать рот и обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии; P302+P352 – при попадании на кожу промыть большим количеством воды и мыла; P305+P351+P338 – при попадании в глаза осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если Вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз; P332+P311 – при возникновении раздражения кожи обратиться за медицинской помощью.			

Входящий в состав комплекта реагентов для выделения внеклеточной ДНК буфер SDS в соответствии с информацией производителя покупного изделия, содержит додецилсульфат натрия (указания на риски и меры предосторожности приведены в таблице выше). При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности контакт с организмом человека исключён.

Входящий в состав комплекта реагентов для секвенирования картридж с реагентами (ячейка б), в соответствии с информацией производителя покупного изделия, содержит формамид (указания на риски и меры предосторожности приведены в таблице выше). При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности контакт с организмом человека исключён.

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой.

Не использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида компонентов, указанного в паспорте к набору реагентов;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора реагентов;
- по истечению срока годности набора реагентов.

Примечание – Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК не содержит материалов биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование, реагенты и расходные материалы:

Оборудование и расходные материалы	Комплектации	
	С.48, Р.48, L.48	С.96, Р.96, L.96
Оборудование		
Зона выделения вкДНК		
бокс биологической безопасности II класса	•	•
ПЦР-бокс	•	•
Устройство дозирующее ДТстрим по ТУ 9443-005-96301278-2012 в варианте исполнения ДТстрим 15L4, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982	• ¹	•
система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического материала Auto-Pure для диагностики in vitro, вариант исполнения Система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического материала Auto-Pure 96 для диагностики in vitro, ООО "Ханчжоуская компания инструментов Аошэн", Китай, РУ № РЗН 2022/16430, далее по тексту – станция для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколуночных планшетах	• ¹	•
термостат твердотельный, поддерживающий температуру 60 °С или термошейкер для микропробирок и микропланшетов ПЦР с адаптером для пробирок объемом 2,0 мл, например, TS-100, «BioSan», Латвия	• ²	–
электрический лабораторный аспиратор с колбой-ловушкой для удаления надосадочных жидкостей	• ³	–
магнитный штатив для работы с пробирками 2,0 мл	• ³	–
центрифуга для работы с 96-луночными микропланшетами и глубоколуночными планшетами	–	•
микроцентрифуга-вортекс ⁴	•	•
штатив для дозаторов	•	•
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 2,0 мл	•	•
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл	•	•
холодильник с морозильной камерой	•	•
морозильник бытовой	•	•
Зона подготовки библиотек пре-ПЦР		
ПЦР-бокс	•	•
флуориметр Qubit, «ThermoFisher Scientific», США	•	•
Устройство дозирующее ДТстрим по ТУ 9443-005-96301278-2012 в вариантах исполнения 12M4 и 15M4, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982, далее по тексту – ДТстрим*М4	–	•
система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического материала Auto-Pure для диагностики in vitro, вариант исполнения Система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического материала Auto-Pure 96 для диагностики in vitro, ООО "Ханчжоуская компания инструментов Аошэн", Китай, РУ № РЗН 2022/16430, далее по тексту – станция для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколуночных планшетах	–	•
амплификатор с нагреваемой крышкой, поддерживающий работу с пластиком объемом 0,2 мл/ термоциклер планшетного типа с нагреваемой крышкой ⁵	•	•
шейкер для планшетов/стрипов	• ⁶	–
магнитный штатив для работы с пробирками 0,2 или 1,5 мл	•	–
центрифуга для работы с 96-луночными микропланшетами и глубоколуночными планшетами	–	•
микроцентрифуга-вортекс ⁴	•	•

Оборудование и расходные материалы	Комплектации	
	С.48, Р.48, L.48	С.96, Р.96, L.96
ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл (при необходимости)	•	–
штатив для дозаторов	•	•
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл	•	•
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 0,5 мл	•	–
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 0,2 мл (при необходимости)	•	–
штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл (при необходимости)	•	–
холодильник с морозильной камерой	•	•
морозильник бытовой	•	•
Зона подготовки библиотек пост-ПЦР		
ПЦР-бокс	•	•
Устройство дозирующее ДТстрим по ТУ 9443-005-96301278-2012 в вариантах исполнения 12М4 и 15М4, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982, далее по тексту – ДТстрим*М4	–	•
система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического материала Auto-Pure для диагностики in vitro, вариант исполнения Система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического материала Auto-Pure 96 для диагностики in vitro, ООО "Ханчжоуская компания инструментов Аошэн", Китай, РУ № РЗН 2022/16430, далее по тексту – станция для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколуночных планшетах	–	•
шейкер для планшетов/стрипов	• ⁶	–
магнитный штатив для работы с пробирками 0,2 или 1,5 мл	•	–
центрифуга для работы с 96-луночными микропланшетами и глубоколуночными планшетами	–	•
микроцентрифуга-вортекс ⁴	•	–
ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл (при необходимости)	•	–
флуориметр Qubit, «ThermoFisher Scientific», США	•	•
система автоматизированного электрофореза TapeStation4200, «Agilent», США	•	•
Устройство для электрофореза нуклеиновых кислот в агарозных и акриламидных гелях УЭФ-01-"ДНК-Техн." по ТУ 9443-002-46482062-2002, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2012/13645	•	•
камера для горизонтального электрофореза (например, ООО «НПФ Хеликон», Россия)	•	•
дозаторы механические или электронные переменного объема одноканальные, позволяющие отбирать объем жидкости от 0,5 до 10 мкл, от 2,0 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл	•	•
штатив для дозаторов	•	•
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл	•	•
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 0,5 мл	•	–
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 0,2 мл (при необходимости)	•	–
штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл (при необходимости)	•	–
холодильник с морозильной камерой	•	•
морозильник бытовой	•	•
Зона проведения секвенирования		
секвенатор нуклеиновых кислот ⁷	• ⁸	• ⁸

Оборудование и расходные материалы	Комплектации	
	С.48, Р.48, L.48	С.96, Р.96, L.96
Расходные материалы		
одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 10 мкл, 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл	•	•
одноразовые наконечники с фильтром для дозирующего устройства ДТстрим, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 200 мкл или рекомендованные для аналогичного используемого дозирующего устройства	–	•
одноразовые наконечники с фильтром для дозирующего устройства ДТстрим, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 1000 мкл или рекомендованные для аналогичного используемого дозирующего устройства	• ¹	•
пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз	•	–
одноразовые пробирки объёмом 0,5 мл, свободные от РНКаз и ДНКаз	•	–
одноразовые пробирки объёмом 2,0 мл, свободные от РНКаз и ДНКаз	•	•
пробирки амплификационные объёмом 0,2 мл или пробирки амплификационные объёмом 0,2 мл в стрипах по 8 шт, свободные от РНКаз и ДНКаз	•	–
микропланшет ПЦР 96 лунок	–	•
глубоколуночные планшеты	• ¹	•
насадка на магнитные стержни 96	• ¹	•
пробирки типа Фалькон объёмом 50 мл	–	•
тонкостенные пробирки объёмом 0,5 мл для флуориметра	•	•
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	•	•
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	•	•
адгезивная фольга для заклеивания микропланшетов ПЦР 96 лунок	–	•
Примечания к таблице: ¹ – в случае использования автоматизированного дозирования для выделения вкДНК ² – в случае использования ручного дозирования для выделения вкДНК из плазмы, полученной из пробирок со стабилизатором внеклеточной ДНК ³ – в случае использования ручного дозирования для выделения вкДНК ⁴ – рекомендуется Встряхиватель лабораторный медицинский «ДТспин» по ТУ 32.50.50-003-96301278-2024, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2024/24070; ротор для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл входит в комплектацию ⁵ – далее по тексту – амплификатор; требуемые параметры амплификаторов указаны ниже ⁶ – в случае использования магнитного штатива для работы с пробирками 0,2 мл ⁷ – далее по тексту – секвенатор; требуемые параметры секвенаторов указаны ниже ⁸ – для работы с набором реагентов в вариантах исполнения Комплектация С.48 и Комплектация С.96 необходимо использовать секвенатор NextSeq™ 550Dx, «Иллюмина Инк», США, РУ № РЗН 2021/13216 Расшифровка обозначений: «•» – требуется «–» – не требуется		

Реагенты:

- набор реагентов для флуориметра с маркировкой HS (high sensitivity) для измерения концентрации ДНК;
- набор реагентов для анализа полученной библиотеки на капиллярном электрофорезе с маркировкой HS (high sensitivity);
- маркер длин амплифицированных фрагментов (например, pUC19 ДНК/MspI ООО «Силекс», Россия);
- набор/комплект реагентов для детекции продуктов ПЦР методом гель-электрофореза;
- 96% этиловый спирт;
- PhiX Control «Иллюмина Инк», США;
- NaOH (1,0М или 10М);
- дезинфицирующий раствор.

Дополнительно для взятия крови и получения плазмы крови:

- вакуумные пластиковые пробирки с ЭДТА или вакуумные пробирки со стабилизатором внеклеточной ДНК;
- одноразовые пробирки объемом 1,5 мл, 2,0 мл, свободные от РНКаз и ДНКаз;
- центрифуга для вакуумных пробирок, обеспечивающая RCF(g) 1600;
- центрифуга для пробирок объемом 2,0 мл, обеспечивающая RCF(g) 12000;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл, 2,0 мл.

Набор реагентов применяется с секвенаторами нуклеиновых кислот, зарегистрированными в установленном порядке в РФ и соответствующими следующим требованиям:

- поддерживается секвенирование библиотек, структура которых идентична той, что используется на секвенаторах компании Illumina;
- обеспечивается прочтение как баркодной, так и нуклеотидной последовательности ДНК как в прямом, так и обратном направлении (парноконцевое секвенирование);
- обеспечивается $\geq 80\%$ данных запуска со значением Q30.

Для работы с набором реагентов валидированы следующие секвенаторы:

- Секвенатор нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS), «Иллюмина Инк», США, РУ №РЗН 2021/13216;
- Секвенатор нуклеиновых кислот «Геноскан» по ТУ 26.51.53-004-95224908-2020, Модель «Геноскан 4000», ООО «Сесана», Россия, РУ № РЗН 2025/24616;
- Генетический секвенатор «Р-Ген» по ТУ 26.51.53-001-46504800-2025 в моделях, модель: Генетический секвенатор «Р-Ген 2000» по ТУ 26.51.53-001-46504800-2025, ООО «Р-Ген производство», Россия.

Для проведения секвенирования на валидированных секвенаторах должны использоваться наборы реагентов для секвенирования, предназначенные для соответствующей модели секвенатора. Наборы реагентов для секвенирования приобретаются отдельно и не входят в состав настоящего набора реагентов, за исключением вариантов исполнения Комплектация С.48 и Комплектация С.96.

Для маркирования библиотек нуклеиновых кислот для вариантов исполнения Комплектация Р.48, Комплектация Р.96, Комплектация L.48, Комплектация L.96 следует использовать Набор индексов для идентификации библиотек нуклеиновых кислот (Индексы LIC), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, не входящий в состав указанных комплектаций настоящего набора реагентов, в соответствии с инструкцией по применению.

Набор реагентов применяется с амплификаторами планшетного типа, зарегистрированными в установленном порядке в РФ и соответствующими следующим требованиям:

- обеспечивается работа с объемом реакционной смеси 30 мкл, 35 мкл, 40 мкл, 50 мкл;
- подогреваемая крышка с температурой более 100 °С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/с;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/с;
- точность поддержания и однородность температуры не более $\pm 0,4$ °С.

Для работы с набором реагентов валидированы следующие амплификаторы:

- Амплификатор «ДТклассик II» по ТУ 26.51.53-007-96301278-2025, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия;
- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (модификация «ДТпрайм *М*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229;
- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм II» по ТУ 26.51.53-001-96301278-2022 (модификация «ДТпрайм II *М*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2024/24179.

По вопросам применения амплификаторов, не указанных выше, требуется согласование с производителем набора реагентов.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют цельную периферическую кровь беременной женщины.

Ограничение метода¹: внутривенные инъекции гепарина, инфузии препаратов для парентерального питания менее чем за 6 часов до исследования.

6.2 Взятие материала на исследование

ВНИМАНИЕ! Перед выделением вкДНК требуется подготовка образцов периферической крови (6.4).

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки с добавленной в качестве антикоагулянта солью ЭДТА или в вакуумные пробирки для взятия крови и стабилизации находящейся в ней свободной циркулирующей (внеклеточной) ДНК, зарегистрированные в качестве МИ и рекомендованные производителем, (например, Устройства вакуумные с поршнем для исследований проб крови S-Monovette® с K2ЭДТА и разделительным гелем, «Сарштедт АГ и Ко. КГ», Германия, РУ № ФСЗ 2009/04702, Пробирка вакуумная стерильная для сбора и стабилизации образца цельной крови с целью анализа внеклеточной ДНК (Cell-Free DNA BCT), «Стрек ЛЛС д/б/а Стрек», США, РУ № РЗН 2021/14009, Пробирка вакуумная стерильная GRADBIOMED® для сбора, транспортировки и хранения образца венозной крови с целью анализа внеклеточной ДНК по ТУ 32.50.13-001-36330871-2021, ООО «ГБМ», Россия, РУ № РЗН 2022/17450).

Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо плавно перевернуть пробирку не менее 3–5 раз.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

¹ – если это не противоречит требованиям к используемым наборам реагентов для выделения вкДНК

6.3 Транспортирование и хранение образцов крови

Транспортировать и хранить образцы в вакуумных пластиковых пробирках с добавленной в качестве антикоагулянта солью ЭДТА до начала исследования следует при температуре от 2 °С до 8 °С не более 3 часов. В случае невозможности доставки в лабораторию и обработки материала в течение 3 часов необходимо взятие крови в специальные вакуумные пробирки со стабилизатором внеклеточной ДНК. Условия транспортирования и хранения образцов в вакуумных пробирках со стабилизатором внеклеточной ДНК определяются инструкцией производителя.

ВНИМАНИЕ! Замораживание образцов не допускается.

6.4 Получение плазмы крови

- 6.4.1 Центрифугируйте пробирки с кровью при RCF(g) 1600 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 20 мин.
- 6.4.2 Промаркируйте необходимое количество пробирок объёмом 2,0 мл (не менее двух для каждого образца плазмы крови).
- 6.4.3 Отберите автоматическим дозатором верхнюю фракцию (плазма), не задевая осажденную (клеточную) фракцию, и перенесите в промаркированные пробирки.
- 6.4.4 Центрифугируйте пробирки с плазмой при RCF(g) 12000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 15 мин.
- 6.4.5 Промаркируйте необходимое количество пробирок объёмом 1,5 мл (не менее двух для каждого образца плазмы крови).
- 6.4.6 Отберите автоматическим дозатором по 900 мкл верхней фракции (плазма), не задевая осажденную (клеточную) фракцию, и перенесите во все промаркированные пробирки.

ВНИМАНИЕ!

1. Не допускается перенос или повреждение осадка клеточной фракции.
 2. Для выделения вкДНК используется только 600 мкл (при ручном дозировании) или 400 мкл (при автоматизированном дозировании) плазмы крови!
- 6.4.7 Образцы готовы для выделения вкДНК.

ВНИМАНИЕ! Плазму крови допускается хранить при температуре от 4 °С до 8 °С не более 8 часов или при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более 2 лет. Перед выделением вкДНК необходимо разморозить по одной пробирке плазмы (если образцы были заморожены) для каждого образца при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С). Повторное замораживание плазмы не допускается!

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов для комплектаций С.48, Р.48, L.48 рассчитано на одномоментную подготовку 48 библиотек и проведение одного секвенирования до 48 неизвестных образцов в постановке. Количество реагентов для комплектации С.96 рассчитано на одномоментную подготовку 96 (или дважды по 48) библиотек и проведение двух секвенирований до 48 неизвестных образцов в каждой постановке. Количество реагентов для комплектаций L.96 и Р.96 рассчитано на одномоментную подготовку 96 (или дважды по 48) библиотек и проведение в зависимости от используемого секвенатора и набора для секвенирования к нему одного секвенирования до 96 неизвестных образцов в постановке (или двух секвенирований до 48 неизвестных образцов в каждой постановке).

7.1 Общие требования

- 7.1.1 Используйте одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз. Используемые наконечники меняйте при каждом удалении раствора из пробирки.
- 7.1.2 При добавлении раствора в пробирку, содержащую биологический материал, вносите раствор аккуратно, не касаясь стенок пробирки. При касании стенки пробирки смените наконечник.
- 7.1.3 Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить раствор или из которой будете удалять надсадочную жидкость, и закрывайте ее перед работой со следующей пробиркой. Не допускается работать одновременно с несколькими пробирками с открытыми крышками.
- 7.1.4 Для маркирования библиотек нуклеиновых кислот для вариантов исполнения Комплектация Р.48, Комплектация Р.96, Комплектация L.48, Комплектация L.96, следует использовать совместимые наборы индексов¹, не входящие в состав настоящего набора реагентов, в соответствии с инструкцией по их применению.
- 7.1.5 В одном запуске секвенирования каждому образцу должны соответствовать уникальные, не повторяющиеся в пределах данного запуска индексы. Использование одних и тех же индексов более чем для одного образца в рамках одного запуска не допускается, так как может привести к некорректной идентификации образцов в результате секвенирования.
- 7.1.6 Допускается объединение библиотек ДНК, приготовленных с использованием разных вариантов исполнения набора реагентов АнеуНИПС, при условии соблюдения требований совместимости и при условии, что в пределах одного цикла секвенирования уникальные индексы используются только однократно.

¹ – валидирован Набор индексов для идентификации библиотек нуклеиновых кислот (Индексы LIC), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия

7.2 Выделение внеклеточной ДНК из биологического материала

7.2.1 Подготовка комплекта реагентов для выделения внеклеточной ДНК

Перед началом работы с комплектом реагентов для выделения внеклеточной ДНК необходимо:

- Добавить к порошку протеиназы К 1,75 мл буфера для разведения протеиназы. Тщательно перемешать переворачиванием флакона 10–15 раз. Хранить растворённую протеиназу К следует при температуре от минус 25 °С до минус 15 °С;
- Добавить в буфер W2 100 мл 96% этилового спирта¹, отметить эту информацию на этикетке. Тщательно перемешать переворачиванием флакона 10–15 раз. Хранить разведённый буфер W2 следует при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

Объём плазмы для выделения вкДНК с использованием ручного дозирования составляет 600 мкл, с использованием дозирующего устройства ДТстрим и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах – 400 мкл.

7.2.2 Выделение вкДНК из плазмы, полученной из пробирок с добавленной в качестве антикоагулянта солью ЭДТА, с использованием комплекта реагентов для выделения внеклеточной ДНК, ручное дозирование

- 7.2.2.1 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объёмом 2,0 мл для каждого образца плазмы крови.
- 7.2.2.2 Тщательно перемешайте магнитные частицы VAHTS Particles G на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.2.2.3 Внесите во все промаркированные пробирки по 30 мкл растворённой протеиназы К и по 40 мкл магнитных частиц VAHTS Particles G.
- 7.2.2.4 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 600 мкл плазмы крови (отдельным наконечником для каждой пробирки).
- 7.2.2.5 Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.2.2.6 Добавьте в каждую пробирку по 700 мкл буфера В (отдельным наконечником для каждой пробирки).
- 7.2.2.7 Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.2.8 Поместите пробирки на шейкер или перемешивайте содержимое пробирок переворачиванием при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 10 мин, периодически встряхивая пробирки на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.2.2.9 Выполните 7.2.3.11 – 7.2.3.32.

¹ – допускается использование 100% этилового спирта

- 7.2.3 Выделение вкДНК из плазмы, полученной из пробирок со стабилизатором внеклеточной ДНК, с использованием комплекта реагентов для выделения внеклеточной ДНК, ручное дозирование
- 7.2.3.1 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объемом 2,0 мл для каждого образца плазмы.
- 7.2.3.2 Внесите во все промаркированные пробирки по 30 мкл растворённой протеиназы К и по 90 мкл буфера SDS.
- 7.2.3.3 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 600 мкл плазмы (отдельным наконечником для каждой пробирки).
- 7.2.3.4 Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.2.3.5 Поместите пробирки на термошейкер с температурой 60 °С или термостатируйте пробирки при 60 °С в течение 10 мин, периодически встряхивая пробирки на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.2.3.6 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.2.3.7 Тщательно перемешайте магнитные частицы VAHTS Particles G на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.2.3.8 Внесите во все промаркированные пробирки по 750 мкл буфера В и по 40 мкл магнитных частиц VAHTS Particles G.
- 7.2.3.9 Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.2.3.10 Поместите пробирки на термошейкер или перемешивайте содержимое пробирок переворачиванием при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 6 мин, периодически встряхивая пробирки на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.2.3.11 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.2.3.12 Поместите пробирки в магнитный штатив. Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 3–5 минут либо до тех пор, пока все магнитные частицы не соберутся у стенки пробирки.
- 7.2.3.13 Удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки), не задевая магнитные частицы.
- 7.2.3.14 Добавьте в каждую пробирку по 600 мкл буфера W1.
- 7.2.3.15 Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 15 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.2.3.16 Поместите пробирки в магнитный штатив. Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 2 минут либо до тех пор, пока все магнитные частицы не соберутся у стенки пробирки.
- 7.2.3.17 Удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки), не задевая магнитные частицы.
- 7.2.3.18 Добавьте в каждую пробирку по 600 мкл буфера W2.

- 7.2.3.19 Плотнo закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортeксе в течение 15 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.
- 7.2.3.20 Поместите пробирки в магнитный штатив. Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 2 минут либо до тех пор, пока все магнитные частицы не соберутся у стенки пробирки.
- 7.2.3.21 Удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки), не задевая магнитные частицы.
- 7.2.3.22 Повторите 7.2.3.18 – 7.2.3.21 однократно.
- 7.2.3.23 Плотнo закройте пробирки, центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.
- 7.2.3.24 Верните пробирки в магнитный штатив, аккуратно уберите оставшуюся жидкость со дна, не задевая магнитные частицы, с помощью дозатора, позволяющего отбирать объёмы жидкости от 5,0 до 50 мкл.
- 7.2.3.25 Откройте пробирки и инкубируйте с открытой крышкой при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 10 мин, не вынимая из магнитного штатива.
- 7.2.3.26 Добавьте в каждую пробирку по 50 мкл буфера для элюции, не вынимая их из магнитного штатива.
- 7.2.3.27 Плотнo закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортeксе в течение 5–10 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.
- 7.2.3.28 Инкубируйте пробирки на рабочем столе при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 5 минут, периодически тщательно перемешивая содержимое пробирок на микроцентрифуге-вортeксе.
- 7.2.3.29 Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.
- 7.2.3.30 Поместите пробирки в магнитный штатив. Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 2 минут либо до тех пор, пока все магнитные частицы не соберутся у стенки пробирки.
- 7.2.3.31 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объёмом 1,5 мл для каждого образца.
- 7.2.3.32 Перенесите в соответствующие промаркированные пробирки, не задевая магнитные частицы, по 48 мкл жидкости из пробирок в магнитном штативе.
- 7.2.4 Выделение вкДНК из плазмы, полученной из пробирок с, добавленной в качестве антикоагулянта, солью ЭДТА, с использованием комплекта реагентов для выделения внеклеточной ДНК, дозирующего устройства ДТстрим 15L4 и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах
 - 7.2.4.1 Подготовьте к работе дозирующее устройство ДТстрим 15L4 согласно руководству по эксплуатации дозирующего устройства.

- 7.2.4.2 Подготовьте к работе станцию для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах согласно руководству по эксплуатации станции.
- 7.2.4.3 Подготовьте пустой глубоколоночный планшет 96 лунок с насадкой на магнитные стержни.
- 7.2.4.4 Промаркируйте новый глубоколоночный планшет 96 лунок для анализируемых образцов и необходимое количество новых глубоколоночных планшето 96 лунок для реагентов.
- 7.2.4.5 Распакуйте штатив(ы) с одноразовыми наконечниками с фильтром, свободными от РНКаз и ДНКаз, объемом 1000 мкл (два – для выделения вкДНК из 48 образцов, четыре – для выделения вкДНК из 96 образцов), снимите крышки.
- 7.2.4.6 Установите наконечники на рабочий стол дозирующего устройства.
- 7.2.4.7 Внесите в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл и в пластиковые флаконы объемом 50 мл необходимые объемы реагентов согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.2.4.8 Установите необходимые расходные материалы и реагенты согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.2.4.9 Установите все промаркированные глубоколоночные планшеты 96 лунок на рабочий стол дозирующего устройства.
- 7.2.4.10 Установите пробирки/глубоколоночный планшет с образцами плазмы на рабочий стол дозирующего устройства.
- 7.2.4.11 Подготовьте устройство сброса в соответствии с руководством по эксплуатации дозирующего устройства.
- 7.2.4.12 Используя меню запуска ДТстрим 15L4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение дозирования реагентов.
- 7.2.4.13 После завершения выполнения сценария перенесите подготовленные глубоколоночные планшеты на рабочий стол станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах.
- 7.2.4.14 Установите подготовленные глубоколоночные планшеты по схеме в зависимости от используемого сценария.
- 7.2.4.15 Выберите и запустите соответствующий сценарий выделения вкДНК.
- 7.2.4.16 Дождитесь завершения работы станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах.

Препарат вкДНК готов для подготовки библиотек.

- 7.2.5 Выделение вкДНК из плазмы, полученной из пробирок со стабилизатором внеклеточной ДНК, с использованием комплекта реагентов для выделения внеклеточной ДНК, дозирующего устройства ДТстрим 15L4 и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах
 - 7.2.5.1 Подготовьте к работе дозирующее устройство ДТстрим 15L4 согласно руководству по эксплуатации дозирующего устройства.

- 7.2.5.2 Подготовьте к работе станцию для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах согласно руководству по эксплуатации станции.
- 7.2.5.3 Подготовьте пустой глубоколоночный планшет 96 лунок с насадкой на магнитные стержни.
- 7.2.5.4 Промаркируйте новый глубоколоночный планшет 96 лунок для анализируемых образцов и необходимое количество новых глубоколоночных планшетов 96 лунок для реагентов.
- 7.2.5.5 Распакуйте штатив(ы) с одноразовыми наконечниками с фильтром, свободными от РНКаз и ДНКаз, объемом 1000 мкл (два – для выделения вкДНК из 48 образцов, четыре – для выделения вкДНК из 96 образцов), снимите крышки.
- 7.2.5.6 Установите наконечники на рабочий стол дозирующего устройства.
- 7.2.5.7 Внесите в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл и в пластиковые флаконы объемом 50 мл необходимые объемы реагентов согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.2.5.8 Установите необходимые расходные материалы и реагенты согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.2.5.9 Установите все промаркированные глубоколоночные планшеты 96 лунок на рабочий стол дозирующего устройства.
- 7.2.5.10 Установите пробирки с образцами плазмы на рабочий стол дозирующего устройства.
- 7.2.5.11 Подготовьте устройство сброса в соответствии с руководством по эксплуатации дозирующего устройства.
- 7.2.5.12 Используя меню запуска ДТстрим 15L4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение сценария для подготовки образцов.
- 7.2.5.13 После завершения выполнения сценария перенесите подготовленные глубоколоночные планшеты на рабочий стол станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах.
- 7.2.5.14 Установите подготовленные глубоколоночные планшеты по схеме в зависимости от используемого сценария.
- 7.2.5.15 Выберите и запустите соответствующий сценарий для инкубации.
- 7.2.5.16 Дождитесь завершения работы станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах и перенесите глубоколоночный планшет с анализируемыми образцами на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим 15L4.
- 7.2.5.17 Используя меню запуска ДТстрим 15L4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение сценария для продолжения выделения вкДНК после инкубации.

- 7.2.5.18 После завершения выполнения сценария перенесите подготовленный глубоколоночный планшет на рабочий стол станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах.
- 7.2.5.19 Выберите и запустите соответствующий сценарий выделения вкДНК.
- 7.2.5.20 Дождитесь завершения работы станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах.

Препарат вкДНК готов для подготовки библиотек.

7.2.6 Хранение и использование препарата вкДНК

Допускается хранение выделенной вкДНК при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более 1 месяца.

Перед использованием препарата вкДНК для подготовки библиотек после хранения необходимо разморозить препарат вкДНК при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С, затем встряхнуть пробирки с препаратом вкДНК на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Для препарата вкДНК допускается только однократное размораживание!

Препарат вкДНК готов к подготовке библиотек.

7.3 Подготовка библиотек фрагментов ДНК. Комплектации C.48, P.48, L.48

7.3.1 Подготовка фрагментов ДНК к лигированию и их очистка

- 7.3.1.1 По окончании выделения проведите оценку концентрации выделенной вкДНК на флуориметре или флуоресцентном анализаторе согласно инструкции по применению набора реагентов для измерения концентрации ДНК и руководству по эксплуатации прибора.

- 7.3.1.2 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объемом 0,2 мл для каждого образца.

- 7.3.1.3 Рассчитайте необходимый объем вносимой вкДНК:

$$A=4/B,$$

где: А – необходимый объем вносимой вкДНК (мкл);

В – концентрация вкДНК, измеренная на флуориметре или флуоресцентном анализаторе (нг/мкл).

- 7.3.1.4 Внесите в соответствующие пробирки необходимый объем выделенной вкДНК (по 4,0 нг, см. 7.3.1.3). Доведите объем раствора до 40 мкл буфером для разведения ДНК.

ВНИМАНИЕ! В случае если концентрация выделенной вкДНК менее 0,1 нг/мкл, необходимо вносить по 40 мкл вкДНК.

- 7.3.1.5 Инкубируйте пробирку со смесью для репарации концов ДНК при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) до полного размораживания содержимого. Встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.1.6 Встряхните пробирки с ферментом-KFR и ферментом-PNK на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Фермент-KFR и фермент-PNK следует доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

7.3.1.7 Приготовьте смесь фермента-KFR и фермента-PNK со смесью для репарации концов ДНК. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке объёмом 1,5 мл:

- (8,0 x N) мкл смеси для репарации концов ДНК;
- (1,0 x N) мкл фермента-KFR;
- (1,0 x N) мкл фермента-PNK,

где N – количество неизвестных образцов.

ВНИМАНИЕ! Смесь не подлежит хранению.

7.3.1.8 Плотнo закройте пробирку с приготовленной смесью. Встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.

7.3.1.9 Осторожно добавьте в каждую промаркированную пробирку по 10 мкл приготовленной смеси фермента-KFR и фермента-PNK со смесью для репарации концов ДНК (отдельным наконечником для каждой пробирки), плотно закройте пробирки. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! После добавления в пробирки смеси фермента-KFR и фермента-PNK со смесью для репарации концов ДНК необходимо сразу же выполнить 7.3.1.10.

7.3.1.10 Установите пробирки в блок амплификатора и проведите термостатирование с учётом объёма реакционной смеси, равного 50 мкл, по программе, приведенной в таблице 1.

Таблица 1 – Программа термостатирования

№ блока	Температура, °C	Время		Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
		мин	с			
1	37,0	30	00	1		Цикл
2	4,0	...	...	Хранение		Хранение

7.3.1.11 После окончания термостатирования извлеките пробирки из амплификатора и поместите их на рабочий стол.

7.3.1.12 Встряхните флакон с раствором МЧ (8,0) на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с до получения раствора равномерного коричневого цвета. Инкубируйте при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) не менее 30 минут.

ВНИМАНИЕ! Перед каждым последующим использованием необходимо встряхнуть флакон с раствором МЧ (8,0) на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с до получения раствора равномерного коричневого цвета.

- 7.3.1.13 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объемом 1,5 мл для каждого образца.
- 7.3.1.14 Внесите во все промаркированные пробирки объемом 1,5 мл (см. 7.3.1.13) по 120 мкл раствора МЧ (8,0) и добавьте в каждую пробирку весь объем из соответствующей промаркированной пробирки объемом 0,2 мл. Плотно закройте пробирки. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.3.1.15 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 5 минут.
- 7.3.1.16 Приготовьте 75% этанол. Для этого смешайте в отдельном флаконе:
 - (2,0 x N) мл 96% этанола;
 - (530 x N) мкл деионизированной воды,где N – количество неизвестных образцов.
- 7.3.1.17 Закройте флакон с приготовленным 75% этанолом. Перемешайте содержимое флакона переворачиванием флакона 10–15 раз.

ВНИМАНИЕ! Срок хранения 75% этанола не более 3-х суток. По истечении этого срока следует приготовить новый раствор.

- 7.3.1.18 Поместите пробирки в магнитный штатив.
- 7.3.1.19 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 3 минут либо до тех пор, пока все магнитные частицы не соберутся у стенки пробирки, не вынимая их из магнитного штатива.
- 7.3.1.20 Удалите надосадочную жидкость с помощью дозатора, не задевая магнитные частицы.
- 7.3.1.21 Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл 75% этанола.
- 7.3.1.22 Извлеките пробирки из магнитного штатива и поместите обратно, повернув каждую пробирку на 180 градусов. Повторите 4–5 раз.
- 7.3.1.23 Удалите надосадочную жидкость с помощью дозатора, не задевая магнитные частицы.
- 7.3.1.24 Повторите 7.3.1.21 – 7.3.1.23 однократно.
- 7.3.1.25 Плотно закройте пробирки. Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.3.1.26 Верните пробирки в магнитный штатив, аккуратно уберите оставшуюся жидкость со дна, не задевая магнитные частицы, с помощью дозатора, позволяющего отбирать объемы жидкости 0,5–10 мкл.
- 7.3.1.27 Инкубируйте пробирки с открытой крышкой при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 4 мин, не вынимая их из магнитного штатива.

- 7.3.1.28 Добавьте в каждую пробирку по 27 мкл элюирующего раствора TEL, не вынимая их из магнитного штатива. Плотно закройте пробирки.
- 7.3.1.29 Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 5–10 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с. Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) в течение 2 минут.
- 7.3.1.30 Верните пробирки в магнитный штатив, инкубируйте в течение 2–3 минут, пока жидкость не станет прозрачной.
- 7.3.1.31 Инкубируйте пробирку со смесью для аденилирования при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) до полного размораживания содержимого.
- 7.3.1.32 Промаркируйте по одной одноразовой амплификационной пробирке / стрипованной пробирке объемом 0,2 мл для каждого образца.
- 7.3.1.33 Перенесите из пробирок в магнитном штативе в соответствующие промаркированные пробирки объемом 0,2 мл, не задевая магнитные частицы, по 25 мкл жидкости.
- 7.3.1.34 Встряхните пробирку со смесью для аденилирования на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! В пробирке со смесью для аденилирования возможно выпадение осадка. В этом случае следует встряхивать пробирку на микроцентрифуге-вортексе до полного растворения осадка. Не допускается нагревания пробирки со смесью для аденилирования. Не допускается использование смеси для аденилирования с нерастворенным осадком.

- 7.3.1.35 Встряхните пробирку с ферментом-KFEx- на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Фермент-KFEx- следует доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

- 7.3.1.36 Приготовьте смесь фермента-KFEx- со смесью для аденилирования. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке объемом 1,5 мл:
- (4,5 x N) мкл смеси для аденилирования;
 - (0,5 x N) мкл фермента-KFEx-,
- где N – количество неизвестных образцов.

ВНИМАНИЕ! Смесь не подлежит хранению.

- 7.3.1.37 Плотно закройте пробирку с приготовленной смесью. Встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.3.1.38 Осторожно добавьте в каждую промаркированную пробирку объемом 0,2 мкл, содержащую подготавливаемые библиотеки (см. 7.3.1.32), по 5,0 мкл приготовленной смеси фермента-KFEx- со смесью для аденилирования (отдельным наконечником для каждой пробирки). Плотно закройте пробирки/стрипы, встряхните пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! После внесения в пробирки смеси фермента-KFEx- со смесью для аденилирования необходимо сразу же выполнить 7.3.1.39.

7.3.1.39 Установите пробирки/стрипы в блок амплификатора и проведите термостатирование, с учетом объёма реакционной смеси, равного 30 мкл, по программе, приведенной в таблице 2.

Таблица 2 – Программа термостатирования

№ блока	Температура, °C	Время		Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
		мин	с			
1	37,0	30	00	1		Цикл
2	75,0	10	00	1		Цикл
3	4,0	...	...	Хранение		Хранение

7.3.1.40 После окончания термостатирования извлеките пробирки/стрипы из амплификатора и поместите на рабочий стол.

7.3.2 Лигирование и очистка фрагментов ДНК

7.3.2.1 Инкубируйте пробирку со смесью для лигирования при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) до полного размораживания содержимого.

7.3.2.2 Возьмите необходимое количество стрипов с индексами (по одному индексу на образец) из состава набора реагентов для комплектации С.48 или из Набора индексов для идентификации библиотек нуклеиновых кислот (Индексы LIC) для комплектаций Р.48, L.48.

7.3.2.3 Промаркируйте по одной стрипованной пробирке с индексами для каждого образца.

7.3.2.4 Перенесите из пробирок объёмом 0,2 мкл, содержащих подготавливаемые библиотеки (см. 7.3.1.40), после термостатирования в соответствующие промаркированные пробирки стрипов с индексами по 30 мкл жидкости (отдельным наконечником для каждой пробирки).

7.3.2.5 Зафиксируйте в протоколе постановки соответствие номера индекса и образца с библиотекой.

7.3.2.6 Встряхните пробирку со смесью для лигирования на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! В пробирке со смесью для лигирования возможно выпадение осадка. В этом случае следует встряхивать пробирку на микроцентрифуге-вортексе до полного растворения осадка. Не допускается нагревание пробирки со смесью для лигирования. Не допускается использование смеси для лигирования с нерастворенным осадком.

7.3.2.7 Встряхните пробирку с ферментом-LIG на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Фермент-LIG следует доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

7.3.2.8 Приготовьте смесь фермента-LIG со смесью для лигирования. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке объёмом 1,5 мл:

- (9,0 x N) мкл смеси для лигирования;
- (1,0 x N) мкл фермента-LIG,

где N – количество неизвестных образцов.

ВНИМАНИЕ! Смесь не подлежит хранению.

7.3.2.9 Плотнo закройте пробирку с приготовленной смесью фермента-LIG со смесью для лигирования. Встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.

7.3.2.10 Осторожно добавьтe в каждую промаркированную стрипованную пробирку, содержащую смесь соответствующих индексов и подготавливаемых библиотек (см. 7.2.2.4), по 10 мкл приготовленной смеси фермента-LIG со смесью для лигирования (отдельным наконечником для каждой пробирки).

ВНИМАНИЕ! После внесения смеси фермента-LIG со смесью для лигирования в стрипованные пробирки со смесью соответствующих индексов и подготавливаемых библиотек необходимо сразу же выполнить 7.3.2.11 – 7.3.2.12.

7.3.2.11 Плотнo закройте стрипы. Встряхните стрипы на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.

7.3.2.12 Установите стрипы в блок амплификатора и проведите термостатирование с учетом объёма реакционной смеси, равного 40 мкл, по программе, приведенной в таблице 3.

Таблица 3 – Программа термостатирования

№ блока	Температура, °C	Время		Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
		мин	с			
1	17,0	60	00	1		Цикл
2	4,0	...	...	Хранение		Хранение

7.3.2.13 После окончания термостатирования извлеките стрипы из амплификатора и поместите на рабочий стол.

7.3.2.14 Встряхните флакон с раствором МЧ (8,0) на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с до получения раствора равномерного коричневого цвета. Инкубируйте при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) не менее 30 минут.

7.3.2.15 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объёмом 1,5 мл для каждого образца.

7.3.2.16 Внесите в промаркированные пробирки объёмом 1,5 мл по 40 мкл раствора МЧ (8,0) и добавьте весь объём из соответствующей стрипованной пробирки объёмом 0,2 мл после термостатирования (см. 7.3.2.13).

- 7.3.2.17 Плотно закройте пробирки. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.3.2.18 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 5 минут.
- 7.3.2.19 Поместите пробирки в магнитный штатив.
- 7.3.2.20 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 3 минут либо до тех пор, пока все магнитные частицы не соберутся у стенки пробирки, не вынимая их из магнитного штатива.
- 7.3.2.21 Удалите надосадочную жидкость с помощью дозатора, не задевая магнитные частицы.
- 7.3.2.22 Добавьте в каждую пробирку по 200 мкл 75% этанола.
- 7.3.2.23 Извлеките пробирки из магнитного штатива и поместите обратно, повернув каждую пробирку на 180 градусов. Повторите 4–5 раз.
- 7.3.2.24 Удалите надосадочную жидкость с помощью дозатора, не задевая магнитные частицы.
- 7.3.2.25 Повторите 7.3.2.22 – 7.3.2.24 однократно.
- 7.3.2.26 Плотно закройте пробирки. Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.3.2.27 Верните пробирки в магнитный штатив, аккуратно уберите оставшуюся жидкость со дна, не задевая магнитные частицы, с помощью дозатора, позволяющего отбирать объёмы жидкости 0,5–10 мкл.
- 7.3.2.28 Инкубируйте пробирки с открытой крышкой при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 4 мин, не вынимая из магнитного штатива.
- 7.3.2.29 Добавьте в каждую пробирку по 27 мкл элюирующего раствора TEL, не вынимая их из магнитного штатива.
- 7.3.2.30 Плотно закройте пробирки. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 5–10 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с. Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 2 минут.
- 7.3.2.31 Верните пробирки в магнитный штатив и инкубируйте в течение 2–3 минут, пока жидкость не станет прозрачной.
- 7.3.2.32 Промаркируйте по одной одноразовой амплификационной пробирке / стрипованной пробирке объёмом 0,2 мл для каждого образца.
- 7.3.2.33 Перенесите из пробирок в магнитном штативе в соответствующие промаркированные пробирки объёмом 0,2 мл, не задевая магнитные частицы, по 25 мкл жидкости.

Примечание – Допускается хранение продукта очистки при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более 24 часов.

7.3.3 Проведение амплификации библиотек фрагментов ДНК и их очистка

7.3.3.1 Инкубируйте пробирку со смесью для амплификации библиотек ИЛМ при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) до полного размораживания содержимого. Встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.3.2 Встряхните пробирку с ферментом-POL на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Фермент-POL следует доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

7.3.3.3 Приготовьте смесь фермента-POL со смесью для амплификации библиотек ИЛМ. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке объёмом 1,5 мл:

- (9,5 x N) мкл смеси для амплификации библиотек ИЛМ;
- (0,5 x N) мкл фермента-POL,

где N – количество неизвестных образцов.

ВНИМАНИЕ! Смесь не подлежит хранению.

7.3.3.4 Плотнo закройте пробирку с приготовленной смесью фермента-POL со смесью для амплификации библиотек ИЛМ. Встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.3.5 Осторожно добавьте в каждую промаркированную пробирку, содержащую подготавливаемые библиотеки (см. 7.3.2.33), по 10 мкл приготовленной смеси фермента-POL со смесью для амплификации библиотек ИЛМ (отдельным наконечником для каждой пробирки).

ВНИМАНИЕ! После внесения в пробирки с подготавливаемыми библиотеками смеси фермента-POL со смесью для амплификации библиотек ИЛМ необходимо сразу же выполнить 7.3.3.6 – 7.3.3.7.

7.3.3.6 Плотнo закройте пробирки/стрипы. Встряхните пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.3.7 Установите все пробирки/стрипы в блок амплификатора и проведите амплификацию с учетом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл, по программе, приведенной в таблице 4.

Таблица 4 – Программа амплификации

№ блока	Температура, °C	Время		Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
		мин	с			
1	94,0	5	00	1		Цикл
2	94,0	0	15	6		Цикл
	58,0	0	15			
	70,0	1	00			
3	70,0	5	00	1		Цикл
4	10,0	...	...	Хранение		Хранение

- 7.3.3.8 После окончания амплификации извлеките пробирки/стрипы из амплификатора и поместите на рабочий стол.
- 7.3.3.9 Встряхните флакон с раствором МЧ (3,2) на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с до получения раствора равномерного коричневого цвета. Инкубируйте при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) не менее 30 минут.
- 7.3.3.10 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объемом 1,5 мл для каждого образца.
- 7.3.3.11 Внесите в промаркированные пробирки объемом 1,5 мл по 35 мкл раствора МЧ (3,2) и добавьте весь объем из соответствующей пробирки объемом 0,2 мл после амплификации (см. 7.3.3.8).
- 7.3.3.12 Плотно закройте пробирки. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.3.3.13 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) в течение 5 минут.
- 7.3.3.14 Поместите пробирки в магнитный штатив.
- 7.3.3.15 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) в течение 3 минут либо до тех пор, пока все магнитные частицы не соберутся у стенки пробирки, не вынимая их из магнитного штатива.
- 7.3.3.16 Удалите надосадочную жидкость с помощью дозатора, не задевая магнитные частицы.
- 7.3.3.17 Добавьте в каждую пробирку по 200 мкл 75% этанола.
- 7.3.3.18 Извлеките пробирки из магнитного штатива и поместите обратно, повернув каждую пробирку на 180 градусов. Повторите 4–5 раз.
- 7.3.3.19 Удалите надосадочную жидкость с помощью дозатора, не задевая магнитные частицы.
- 7.3.3.20 Повторите 7.3.3.17 – 7.3.3.19 однократно.
- 7.3.3.21 Плотно закройте пробирки. Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

- 7.3.3.22 Верните пробирки в магнитный штатив, аккуратно уберите оставшуюся жидкость со дна, не задевая магнитные частицы, с помощью дозатора, позволяющего отбирать объёмы жидкости 0,5–10 мкл.
- 7.3.3.23 Инкубируйте пробирки с открытой крышкой при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 4 мин, не вынимая из магнитного штатива.
- 7.3.3.24 Добавьте в каждую пробирку по 32 мкл элюирующего раствора TEL, не вынимая их из магнитного штатива.
- 7.3.3.25 Плотнo закройте пробирки. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортeксе в течение 5–10 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.
- 7.3.3.26 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 2 минут.
- 7.3.3.27 Верните пробирки в магнитный штатив, инкубируйте в течение 2–3 минут, пока жидкость не станет прозрачной.
- 7.3.3.28 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объёмом 1,5 мл для каждого образца.
- 7.3.3.29 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки объёмом 1,5 мл по 30 мкл раствора МЧ (3,2).
- 7.3.3.30 Перенесите из пробирок в магнитном штативе в соответствующие промаркированные пробирки объёмом 1,5 мл с раствором МЧ (3,2), не задевая магнитные частицы, по 30 мкл жидкости.
- 7.3.3.31 Плотнo закройте пробирки. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.
- 7.3.3.32 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 5 минут.
- 7.3.3.33 Поместите пробирки в магнитный штатив.
- 7.3.3.34 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 3 минут либо до тех пор, пока все магнитные частицы не соберутся у стенки пробирок, не вынимая их из магнитного штатива.
- 7.3.3.35 Удалите надосадочную жидкость с помощью дозатора, не задевая магнитные частицы.
- 7.3.3.36 Добавьте в каждую пробирку по 200 мкл 75% этанола.
- 7.3.3.37 Извлеките пробирки из магнитного штатива и поместите обратно, повернув каждую пробирку на 180 градусов. Повторите 4–5 раз.
- 7.3.3.38 Удалите надосадочную жидкость с помощью дозатора, не задевая магнитные частицы.
- 7.3.3.39 Повторите 7.3.3.36 – 7.3.3.38 однократно.
- 7.3.3.40 Плотнo закройте пробирки. Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.
- 7.3.3.41 Верните пробирки в магнитный штатив, аккуратно уберите оставшуюся жидкость со дна, не задевая магнитные частицы, с помощью дозатора, позволяющего отбирать объёмы жидкости 0,5–10 мкл.

- 7.3.3.42 Инкубируйте пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 4 мин, не вынимая их из магнитного штатива.
- 7.3.3.43 Добавьте в каждую пробирку по 27 мкл элюирующего раствора TEL, не вынимая их из магнитного штатива.
- 7.3.3.44 Плотнo закройте пробирки. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортeксе в течение 5–10 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.
- 7.3.3.45 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 2 минут.
- 7.3.3.46 Верните пробирки в магнитный штатив и инкубируйте в течение 2–3 минут, пока жидкость не станет прозрачной.
- 7.3.3.47 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объёмом 0,5 мл для каждого образца.
- 7.3.3.48 Перенесите из пробирок в магнитном штативе в соответствующие промаркированные пробирки объёмом 0,5 мл, не задевая магнитные частицы, по 25 мкл жидкости.

Примечание – Допускается хранение библиотеки при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более 1 месяца или в морозильной камере при температуре минус 70 °С не более 1 года.

7.4 Подготовка библиотек фрагментов ДНК. Комплектации C.96, P.96, L.96

7.4.1 Подготовка фрагментов ДНК к лигированию и их очистка

- 7.4.1.1 По окончании выделения проведите оценку концентрации выделенной вкДНК на флуориметре или флуоресцентном анализаторе согласно инструкции по применению набора реагентов для измерения концентрации ДНК и руководству по эксплуатации прибора.
- 7.4.1.2 Рассчитайте необходимый объём вносимой вкДНК:
$$A=4/B,$$
где: А – необходимый объём вносимой вкДНК (мкл);
В – концентрация вкДНК, измеренная на флуориметре или флуоресцентном анализаторе (нг/мкл).
- 7.4.1.3 Установите глубоколоночный планшет с выделенной вкДНК, пробирки с буфером для разведения ДНК и пустой микропланшет ПЦР 96 лунок на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4 согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.4.1.4 Используя меню запуска ДТстрим*М4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение дозирования реагентов.
- 7.4.1.5 После завершения выполнения сценария заклейте микропланшет ПЦР 96 лунок с разведённой вкДНК адгезивной фольгой.
- 7.4.1.6 Инкубируйте пробирки со смесью для репарации концов ДНК при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) до полного размораживания содержимого. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортeксе в течение 1–3 с.

7.4.1.7 Встряхните пробирки с ферментом-KFR и ферментом-PNK на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Фермент-KFR и фермент-PNK следует доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

7.4.1.8 Установите микропланшет ПЦР 96 лунок с разведённой вкДНК и пробирки со смесью для репарации концов ДНК, ферментом-KFR и ферментом-PNK на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4.

7.4.1.9 Используя меню запуска ДТстрим*М4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение дозирования реагентов.

7.4.1.10 После завершения выполнения сценария заклейте микропланшет ПЦР 96 лунок с ДНК адгезивной фольгой (не удаляя предыдущую), установите его в блок амплификатора и проведите термостатирование с учётом объёма реакционной смеси, равного 50 мкл, по программе, приведенной в таблице 5.

Таблица 5 – Программа термостатирования

№ блока	Температура, °С	Время		Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
		мин	с			
1	37,0	30	00	1		Цикл
2	4,0	...	...	Хранение		Хранение

7.4.1.11 После окончания термостатирования извлеките микропланшет ПЦР 96 лунок из амплификатора и поместите его на рабочий стол.

7.4.1.12 Встряхните картридж с реагентами №1 до получения раствора равномерного коричневого цвета. Инкубируйте при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) не менее 30 минут, сбросьте капли центрифугированием в течение 1–3 с или вручную.

7.4.1.13 Приготовьте 75% этанол. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке типа Фалькон объёмом 50 мл:

- 36 мл 96% этанола;
- 9,6 мл деионизированной воды.

7.4.1.14 Закройте пробирку с приготовленным 75% этанолом. Перемешайте содержимое пробирки переворачиванием 10–15 раз.

ВНИМАНИЕ! Срок хранения 75% этанола не более 3-х суток. По истечении этого срока следует приготовить новый раствор.

7.4.1.15 Промаркируйте четыре новых глубоколоночных планшета.

7.4.1.16 Установите микропланшет ПЦР 96 лунок с ДНК, пробирку с 75% этанолом, картридж №1 и четыре промаркированных глубоколоночных планшета на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4.

- 7.4.1.17 Используя меню запуска ДТстрим*М4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение дозирования реагентов.
- 7.4.1.18 После завершения выполнения сценария перенесите подготовленные глубоколоночные планшеты на рабочий стол станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах.
- 7.4.1.19 Установите подготовленные глубоколоночные планшеты и необходимые расходные материалы (насадку на магнитные стержни, пустой глубоколоночный планшет 96 лунок для сброса насадки на магнитные стержни) по схеме в зависимости от используемого сценария.
- 7.4.1.20 Выберите и запустите соответствующий сценарий.
- 7.4.1.21 Встряхните пробирки со смесью для аденилирования на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! В пробирке со смесью для аденилирования возможно выпадение осадка. В этом случае следует встряхивать пробирку на микроцентрифуге-вортексе до полного растворения осадка. Не допускается нагревания пробирки со смесью для аденилирования. Не допускается использование смеси для аденилирования с нерастворенным осадком.

- 7.4.1.22 Встряхните пробирку с ферментом-KFEx- на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.4.1.23 Дождитесь завершения работы станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах, перенесите промаркированные глубоколоночные планшеты на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4 и установите их согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.4.1.24 Установите пробирки со смесью для аденилирования, ферментом-KFEx- и пустой микропланшет ПЦР 96 лунок на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4 согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.4.1.25 Используя меню запуска ДТстрим*М4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение дозирования реагентов.
- 7.4.1.26 После завершения выполнения сценария заклейте микропланшет ПЦР 96 лунок с ДНК адгезивной фольгой, установите его в блок амплификатора и проведите термостатирование с учётом объёма реакционной смеси, равного 30 мкл, по программе, приведенной в таблице 6.

Таблица 6 – Программа термостатирования

№ блока	Температура, °C	Время		Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
		мин	с			
1	37,0	30	00	1		Цикл
2	75,0	10	00	1		Цикл
3	4,0	...	...	Хранение		Хранение

- 7.4.1.27 После окончания термостатирования извлеките микропланшет ПЦР 96 лунок из амплификатора и поместите его на рабочий стол.
- 7.4.2 Лигирование и очистка фрагментов ДНК
- 7.4.2.1 Инкубируйте пробирки со смесью для лигирования при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) до полного размораживания содержимого.
- 7.4.2.2 Возьмите микропланшет с индексами из состава набора реагентов (для комплектации С.96) или из Набора индексов для идентификации библиотек нуклеиновых кислот (Индексы LIC) (для комплектаций Р.96, L.96).
- 7.4.2.3 Зафиксируйте в протоколе постановки соответствие сета индексов и микропланшета с образцами.
- 7.4.2.4 Встряхните пробирки со смесью для лигирования на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! В пробирке со смесью для лигирования возможно выпадение осадка. В этом случае следует встряхивать пробирку на микроцентрифуге-вортексе до полного растворения осадка. Не допускается нагревание пробирки со смесью для лигирования. Не допускается использование смеси для лигирования с нерастворенным осадком.

- 7.4.2.5 Встряхните пробирку с ферментом-LIG на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Фермент-LIG следует доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

- 7.4.2.6 Установите микропланшет ПЦР 96 лунок с ДНК и пробирки со смесью для лигирования и ферментом-LIG на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4 согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.4.2.7 Используя меню запуска ДТстрим*М4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение сценария для проведения лигирования.
- 7.4.2.8 После завершения выполнения сценария заклейте микропланшет ПЦР 96 лунок с ДНК адгезивной фольгой (не удаляя предыдущую), установите его в блок амплификатора и проведите термостатирование с учётом объёма реакционной смеси, равного 40 мкл, по программе, приведенной в таблице 7.

Таблица 7 – Программа термостатирования

№ блока	Температура, °С	Время		Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
		мин	с			
1	17,0	60	00	1		Цикл
2	4,0	...	...	Хранение		Хранение

- 7.4.2.9 После окончания термостатирования извлеките микропланшет ПЦР 96 лунок из амплификатора и поместите его на рабочий стол.

- 7.4.2.10 Встряхните картридж с реагентами №2 до получения раствора равномерного коричневого цвета. Инкубируйте при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) не менее 30 минут, сбросьте капли центрифугированием в течение 1–3 с или вручную.
- 7.4.2.11 Приготовьте 75% этанол. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке типа Фалькон объемом 50 мл:
- 36 мл 96% этанола;
 - 9,6 мл деионизированной воды.
- 7.4.2.12 Закройте пробирку с приготовленным 75% этанолом. Перемешайте содержимое пробирки переворачиванием 10–15 раз.

ВНИМАНИЕ! Срок хранения 75% этанола не более 3-х суток. По истечении этого срока следует приготовить новый раствор.

- 7.4.2.13 Промаркируйте четыре новых глубоколоночных планшета.
- 7.4.2.14 Установите микропланшет ПЦР 96 лунок с библиотекой ДНК, пробирку с 75% этанолом, картридж №2 и четыре промаркированных глубоколоночных планшета на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4.
- 7.4.2.15 Используя меню запуска ДТстрим*М4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение сценария для продолжения лигирования.
- 7.4.2.16 После завершения выполнения сценария перенесите подготовленные глубоколоночные планшеты на рабочий стол станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах.
- 7.4.2.17 Установите подготовленные глубоколоночные планшеты и необходимые расходные материалы (насадку на магнитные стержни, пустой глубоколоночный планшет 96 лунок для сброса насадки на магнитные стержни) по схеме в зависимости от используемого сценария.
- 7.4.2.18 Выберите и запустите соответствующий сценарий.
- 7.4.2.19 Дождитесь завершения работы станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах.

7.4.3 Проведение амплификации библиотек фрагментов ДНК и их очистка

- 7.4.3.1 Инкубируйте пробирки со смесью для амплификации библиотек ИЛМ при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) до полного размораживания содержимого. Встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.4.3.2 Встряхните пробирки с ферментом-POL на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Фермент-POL следует доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

- 7.4.3.3 Перенесите глубоколоночный планшет с ДНК (см. 7.4.2.19) на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4 и установите его согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.4.3.4 Установите пробирки со смесью для амплификации библиотек ИЛМ, ферментом-POL и пустой микропланшет ПЦР 96 лунок на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4 согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.4.3.5 Используя меню запуска ДТстрим*М4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение сценария для подготовки к амплификации ДНК.
- 7.4.3.6 После завершения выполнения сценария заклейте микропланшет ПЦР 96 лунок с библиотеками ДНК адгезивной фольгой/плёнкой, установите его в блок амплификатора и проведите термостатирование с учётом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл, по программе, приведенной в таблице 8.

Таблица 8 – Программа амплификации

№ блока	Температура, °C	Время		Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
		мин	с			
1	94,0	5	00	1		Цикл
2	94,0	0	15	6		Цикл
	58,0	0	15			
	70,0	1	00			
3	70,0	5	00	1		Цикл
4	10,0	...	...	Хранение		Хранение

- 7.4.3.7 После окончания термостатирования извлеките микропланшет ПЦР 96 лунок из амплификатора и поместите его на рабочий стол.
- 7.4.3.8 Встряхните картридж с реагентами №3 до получения раствора равномерного коричневого цвета. Инкубируйте при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) не менее 30 минут, сбросьте капли центрифугированием в течение 1–3 с или вручную.
- 7.4.3.9 Приготовьте 75% этанол. Для этого смешайте в 2 отдельных одноразовых пробирках типа Фалькон объёмом 50 мл:
- по 36 мл 96% этанола в каждой пробирке;
 - по 9,6 мл деионизированной воды в каждой пробирке.
- 7.4.3.10 Закройте пробирки с приготовленным 75% этанолом. Перемешайте содержимое пробирок переворачиванием 10–15 раз.

ВНИМАНИЕ! Срок хранения 75% этанола не более 3-х суток. По истечении этого срока следует приготовить новый раствор.

- 7.4.3.11 Промаркируйте четыре новых глубоколоночных планшета.

- 7.4.3.12 Установите микропланшет ПЦР 96 лунок с ДНК, пробирки с 75% этанолом, картридж №3 и четыре промаркированных глубоколуночных планшета на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4.
- 7.4.3.13 Используя меню запуска ДТстрим*М4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение сценария для финальной очистки ДНК.
- 7.4.3.14 После завершения выполнения сценария закройте картридж №3 крышкой и поместите его на рабочий стол, перенесите подготовленные глубоколуночные планшеты на рабочий стол станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколуночных планшетах.
- 7.4.3.15 Установите подготовленные глубоколуночные планшеты и необходимые расходные материалы (насадку на магнитные стержни, пустой глубоколуночный планшет 96 лунок для сброса насадки на магнитные стержни) по схеме в зависимости от используемого сценария.
- 7.4.3.16 Выберите и запустите соответствующий сценарий.
- 7.4.3.17 Дождитесь завершения работы станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколуночных планшетах, перенесите промаркированные глубоколуночные планшеты на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4 и установите его согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.4.3.18 Промаркируйте 3 новых глубоколуночных планшета.
- 7.4.3.19 Установите пробирки с 75% этанолом, картридж №3 и 3 промаркированных глубоколуночных планшета на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим*М4 согласно схеме рабочего стола дозирующего устройства.
- 7.4.3.20 Используя меню запуска ДТстрим*М4 или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение сценария для продолжения финальной очистки ДНК.
- 7.4.3.21 После завершения выполнения сценария перенесите подготовленные глубоколуночные планшеты на рабочий стол станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколуночных планшетах.
- 7.4.3.22 Установите подготовленные глубоколуночные планшеты и необходимые расходные материалы (насадку на магнитные стержни, пустой глубоколуночный планшет 96 лунок для сброса насадки на магнитные стержни) по схеме в зависимости от используемого сценария.
- 7.4.3.23 Выберите и запустите соответствующий сценарий.
- 7.4.3.24 Дождитесь завершения работы станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколуночных планшетах.

Библиотеки готовы для проведения следующих этапов исследования.

Примечание – Допускается хранение библиотеки при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более 1 месяца или в морозильной камере при температуре минус 70 °С не более 1 года.

8 ОЦЕНКА КОЛИЧЕСТВА И КАЧЕСТВА БИБЛИОТЕКИ

8.1 Проведите оценку количества и качества полученных пулов библиотек на флуориметре или флуоресцентном анализаторе согласно инструкции по применению набора реагентов для измерения концентрации ДНК и руководству по эксплуатации прибора.

Для оценки качественного профиля библиотеки (длины представленных в библиотеке фрагментов, долю лигированных продуктов) можно использовать метод горизонтального гель-электрофореза. Электрофорез проводится в соответствии с инструкцией по применению набора/комплекта реагентов для детекции продуктов ПЦР методом гель-электрофореза.

8.2 На полученной электрофореграмме должен определяться пик, имеющий нормальное распределение длин от 270 до 340 п.н. Допускается наличие продуктов длиной более 340 п.н.

При проведении гель-электрофореза в каждой дорожке геля, в которую были внесены библиотеки, должна быть видна светящаяся полоса оранжево-красного цвета, соответствующая фрагменту длиной от 270 до 340 п.н. Более короткие полосы должны отсутствовать. Допускается наличие светящихся полос, соответствующих фрагментам длиной более 340 п.н., разной степени интенсивности.

8.3 Молярная концентрация библиотеки должна быть не менее 500 пмоль/л (не менее 0,5 нмоль/л).

Если прибор показывает концентрацию в нг/мкл, то для расчёта молярной концентрации (нмоль/л) необходимо концентрацию, полученную в нг/мкл, умножить на коэффициент 4,9.

Библиотеки готовы для дальнейшего проведения секвенирования.

9 ПРОВЕДЕНИЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Секвенирование библиотек следует проводить на секвенаторе нуклеиновых кислот согласно руководству по эксплуатации секвенатора.

Регистрация результатов секвенирования проводится прибором автоматически во время проведения секвенирования. Первичный анализ данных секвенирования осуществляется прибором после завершения программы.

10 АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ

Определение доли ДНК плода и риска наличия анеуплоидий по 13, 18, 21, X и Y хромосомам осуществляется с помощью программного обеспечения «СекВарио АнеуНИПС» согласно руководству пользователя к программному обеспечению. Программное обеспечение предназначено только для совместного применения с набором реагентов АнеуНИПС. Персонал, участвующий в анализе данных и интерпретации результатов, должен быть обучен работе с программным обеспечением и выполнению соответствующих этапов исследования в соответствии с настоящей инструкцией по применению и руководством пользователя к программному обеспечению. Контактные данные службы клиентской поддержки представлены в разделе 17 данной инструкции.

Программное обеспечение «СекВарио АнеуНИПС» и руководство пользователя предоставляются на USB-флеш-накопителе или представлены на Интернет-ресурсе компании-производителя.

Информация об Интернет-ресурсе для скачивания программного обеспечения и руководства пользователя будет указана в инструкции к набору реагентов после получения регистрационного удостоверения на медицинское изделие.

Социальные, правовые и этические вопросы проведения неинвазивного пренатального скрининга (НИПС)

На текущий момент для широкого внедрения в акушерскую практику НИПС может быть предложен только как скрининг анеуплоидий по аутосомам 13, 18, 21 и половым хромосомам X, Y. Остальные хромосомные нарушения являются более редкими и имеют высокий процент ложноположительных результатов, менее определенную клиническую значимость, более низкую чувствительность, вызывают большую сложность при проведении генетического консультирования. Согласованный вывод ряда крупных специалистов в пренатальной диагностике свидетельствует о том, что нет достаточных доказательств в поддержку рутинного использования НИПС для скрининга редких ХА, при этом потенциальный вред на данный момент перевешивает пользу. Доказанное клиническое значение имеет только обнаружение плацентарного мозаицизма по хромосоме 16. Выявление риска редких и частичных анеуплоидий также требует проведения малодоступной подтверждающей диагностики подобной патологии и в настоящий момент она возможна только в крупных научных организациях.

11 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

11.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта.

11.2 Условия транспортирования, хранения и эксплуатации набора реагентов приведены в таблицах 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6.

11.3 Набор реагентов следует транспортировать и хранить в правильном положении в соответствии с манипуляционным знаком/надписью «ВЕРХ».

Таблица 9.1 – Условия транспортирования, хранения и эксплуатации для варианта исполнения Комплектация С.48

Часть x из 9	Наименование	Температура транспортирования	Температура хранения	Температура хранения после вскрытия упаковки
Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК				
Часть 1 из 9	Протеиназа К	до 8 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Буфер для разведения протеиназы			от 2 °С до 8 °С
	Магнитные частицы VANTS Particles G			
Часть 2 из 9	Буфер W2	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 15 °С до 25 °С	от 15 °С до 25 °С
	Буфер В			
	Буфер SDS			
	Буфер W1			
	Буфер для элюции			
Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК				
Часть 3 из 9	Смесь для репарации концов ДНК	до 8 °С не более 5 суток	от минус 22 °С до минус 18 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Фермент-KFR			
	Фермент-PNK			
	Смесь для аденилирования			
	Фермент-KFEx-			
	Смесь для лигирования			
	Фермент-LIG			
	Смесь для амплификации библиотек ИЛМ			от 2 °С до 8 °С
	Фермент-POL			от минус 22 °С до минус 18 °С
Часть 4 из 9	Буфер для разведения ДНК	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С
	Раствор МЧ (8,0)			
	Элюирующий раствор TEL			
	Раствор МЧ (3,2)			
Часть 5 из 9	Индексы Set S08	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С
Комплект реагентов для секвенирования				
Часть 6 из 9	Картридж с реагентами	до 8 °С не более 5 суток	от минус 25 °С до минус 15 °С	от минус 25 °С до минус 15 °С
Часть 7 из 9	Буфер HT1			
Часть 8 из 9	Проточная ячейка	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С
Часть 9 из 9	Картридж с буфером		от 15 °С до 30 °С	от 15 °С до 30 °С

Таблица 9.2 – Условия транспортирования, хранения и эксплуатации для варианта исполнения Комплектация С.96

Часть x из 15	Наименование	Температура транспортирования	Температура хранения	Температура хранения после вскрытия упаковки
Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК				
Часть 1 из 15	Протеиназа К	до 8 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Буфер для разведения протеиназы			от 2 °С до 8 °С
	Магнитные частицы VAHTS Particles G			
Часть 2 из 15	Протеиназа К	до 8 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Буфер для разведения протеиназы			от 2 °С до 8 °С
	Магнитные частицы VAHTS Particles G			
Часть 3 из 15	Буфер W2	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 15 °С до 25 °С	от 15 °С до 25 °С
	Буфер В			
	Буфер SDS			
	Буфер W1			
	Буфер для элюции			
Часть 4 из 15	Буфер W2	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 15 °С до 25 °С	от 15 °С до 25 °С
	Буфер В			
	Буфер SDS			
	Буфер W1			
	Буфер для элюции			
Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК				
Часть 5 из 15	Смесь для репарации концов ДНК	до 8 °С не более 5 суток	от минус 22 °С до минус 18 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Фермент-KFR			
	Фермент-PNK			
	Смесь для аденилирования			
	Фермент-KFEx-			
	Смесь для лигирования			
	Фермент-LIG			
	Смесь для амплификации библиотек ИЛМ			от 2 °С до 8 °С
	Фермент-POL			от минус 22 °С до минус 18 °С
Часть 6 из 15	Буфер для разведения ДНК	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С
	Картридж с реагентами № 1			
	Картридж с реагентами № 2			
	Картридж с реагентами № 3			
Часть 7 из 15	Индексы Set P12	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С
Комплект реагентов для секвенирования				
Часть 8 из 15	Картридж с реагентами	до 8 °С не более 5 суток	от минус 25 °С до минус 15 °С	от минус 25 °С до минус 15 °С
Часть 9 из 15	Картридж с реагентами			
Часть 10 из 15	Буфер НТ1	до 8 °С не более 5 суток	от минус 25 °С до минус 15 °С	от минус 25 °С до минус 15 °С
Часть 11 из 15	Буфер НТ1			
Часть 12 из 15	Проточная ячейка	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С
Часть 13 из 15	Проточная ячейка			
Часть 14 из 15	Картридж с буфером	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 15 °С до 30 °С	от 15 °С до 30 °С
Часть 15 из 15	Картридж с буфером			

Таблица 9.3 – Условия транспортирования, хранения и эксплуатации для варианта исполнения Комплектация Р.48

Часть x из 4	Наименование	Температура транспортирования	Температура хранения	Температура хранения после вскрытия упаковки
Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК				
Часть 1 из 4	Протеиназа К	до 8 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Буфер для разведения протеиназы			от 2 °С до 8 °С
	Магнитные частицы VAHTS Particles G			
Часть 2 из 4	Буфер W2	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 15 °С до 25 °С	от 15 °С до 25 °С
	Буфер В			
	Буфер SDS			
	Буфер W1			
	Буфер для элюции			
Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК				
Часть 3 из 4	Смесь для репарации концов ДНК	до 8 °С не более 5 суток	от минус 22 °С до минус 18 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Фермент-KFR			
	Фермент-PNK			
	Смесь для аденилирования			
	Фермент-KFEx-			
	Смесь для лигирования			
	Фермент-LIG			
	Смесь для амплификации библиотек ИЛМ			от 2 °С до 8 °С
	Фермент-POL			от минус 22 °С до минус 18 °С
Часть 4 из 4	Буфер для разведения ДНК	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С
	Раствор МЧ (8,0)			
	Элюирующий раствор TEL			
	Раствор МЧ (3,2)			

Таблица 9.4 – Условия транспортирования, хранения и эксплуатации для варианта исполнения Комплектация Р.96

Часть x из 6	Наименование	Температура транспортирования	Температура хранения	Температура хранения после вскрытия упаковки
Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК				
Часть 1 из 6	Протеиназа К	до 8 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Буфер для разведения протеиназы			от 2 °С до 8 °С
	Магнитные частицы VANTS Particles G			
Часть 2 из 6	Протеиназа К	до 8 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Буфер для разведения протеиназы			от 2 °С до 8 °С
	Магнитные частицы VANTS Particles G			
Часть 3 из 6	Буфер W2	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 15 °С до 25 °С	от 15 °С до 25 °С
	Буфер В			
	Буфер SDS			
	Буфер W1			
	Буфер для элюции			
Часть 4 из 6	Буфер W2	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 15 °С до 25 °С	от 15 °С до 25 °С
	Буфер В			
	Буфер SDS			
	Буфер W1			
	Буфер для элюции			
Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК				
Часть 5 из 6	Смесь для репарации концов ДНК	до 8 °С не более 5 суток	от минус 22 °С до минус 18 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Фермент-KFR			
	Фермент-PNK			
	Смесь для аденилирования			
	Фермент-KFEx-			
	Смесь для лигирования			
	Фермент-LIG			
	Смесь для амплификации библиотек ИЛМ			от 2 °С до 8 °С
	Фермент-POL			от минус 22 °С до минус 18 °С
Часть 6 из 6	Буфер для разведения ДНК	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С
	Картридж с реагентами № 1			
	Картридж с реагентами № 2			
	Картридж с реагентами № 3			

Таблица 9.5 – Условия транспортирования, хранения и эксплуатации для варианта исполнения Комплектация L.48

Часть x из 2	Наименование	Температура транспортирования	Температура хранения	Температура хранения после вскрытия упаковки
Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК				
Часть 1 из 2	Смесь для репарации концов ДНК	до 8 °С не более 5 суток	от минус 22 °С до минус 18 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Фермент-KFR			
	Фермент-PNK			
	Смесь для аденилирования			
	Фермент-KFEx-			
	Смесь для лигирования			
	Фермент-LIG			
	Смесь для амплификации библиотек ИЛМ			от 2 °С до 8 °С
	Фермент-POL			от минус 22 °С до минус 18 °С
Часть 2 из 2	Буфер для разведения ДНК	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С
	Раствор МЧ (8,0)			
	Элюирующий раствор TEL			
	Раствор МЧ (3,2)			

Таблица 9.6 – Условия транспортирования, хранения и эксплуатации для варианта исполнения Комплектация L.96

Часть x из 2	Наименование	Температура транспортирования	Температура хранения	Температура хранения после вскрытия упаковки
Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК				
Часть 1 из 2	Смесь для репарации концов ДНК	до 8 °С не более 5 суток	от минус 22 °С до минус 18 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С
	Фермент-KFR			
	Фермент-PNK			
	Смесь для аденилирования			
	Фермент-KFEx-			
	Смесь для лигирования			
	Фермент-LIG			
	Смесь для амплификации библиотек ИЛМ			от 2 °С до 8 °С
	Фермент-POL			от минус 22 °С до минус 18 °С
Часть 2 из 2	Буфер для разведения ДНК	от 2 °С до 25 °С не более 5 суток	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С
	Картридж с реагентами № 1			
	Картридж с реагентами № 2			
	Картридж с реагентами № 3			

11.4 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.

11.5 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

11.6 Наборы реагентов следует хранить при температурах, указанных в таблицах 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6 в течение всего срока годности набора реагентов. При хранении допускается выпадение небольшого осадка в смеси для лигирования и смеси для аденилирования.

11.7 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

11.8 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.

11.9 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

12 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

12.1 При использовании набора 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.

Покупные изделия утилизировать в соответствии с рекомендациями производителя.

12.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПин 2.1.3684-21.

13 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

13.2 Срок годности набора реагентов в вариантах исполнения: Комплектация С.48 и Комплектация С.96 – 6 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации; набора реагентов в вариантах исполнения: Комплектация Р.48, Комплектация Р.96, Комплектация L.48, Комплектация L.96 – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

14 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для однократного применения и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

15 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Температурный диапазон
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Использовать до
	Код партии (серии)
	Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Дата изготовления
	Номер по каталогу
	Изготовитель
	Не допускать воздействия солнечного света

Покупные изделия содержат следующие символы:

	Репродуктивная токсичность
	Осторожно! Содержит раздражающие компоненты

Все используемые при маркировке покупного изделия товарные знаки, логотипы и наименования являются собственностью их соответствующих правообладателей.

16 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ И НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ТУ 20.59.52-018-89545560-2025 Набор реагентов для неинвазивного пренатального ДНК-скрининга анеуплоидий плода по крови матери методом высокопроизводительного секвенирования NGS (АнеуНИПС)

ГОСТ ISO 14971-2021 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции. Основные положения

ГОСТ Р 2.105-2019 Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний

ГОСТ Р ИСО 15190-2023 Лаборатории медицинские. Требования безопасности

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2024 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2024 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального использования

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*

Примечания:

1. Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем, при пользовании документом, целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым) документом.
2. Перечень стандартов, относящихся к программному обеспечению, приведён в руководстве пользователя.

17 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики и другого лабораторного применения и ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС» (ООО «ДНК-Технология ТС»), Россия.

Адрес производителя: 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

Место производства: ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

По вопросам, касающимся качества набора 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

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Индексы для набора реагентов АнеуНИПС

Индексы, включенные в состав комплекта реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК, различаются для разных вариантов исполнения набора реагентов. Индексы объединены в сеты (Set).

Комплектация С.48 включает Set S08 – 6 стрипов по 8 пробирок. Каждая пробирка стрипа промаркирована (указан индекс).

Комплектация С.96 включает Set P12 – 1 микропланшет 96 лунок.

Индексы Set S08. 6 стрипов по 8 пробирок.

Индексы Set S08 (ts337 – ts384)							
ts337	ts338	ts339	ts340	ts341	ts342	ts343	ts344
ts345	ts346	ts347	ts348	ts349	ts350	ts351	ts352
ts353	ts354	ts355	ts356	ts357	ts358	ts359	ts360
ts361	ts362	ts363	ts364	ts365	ts366	ts367	ts368
ts369	ts370	ts371	ts372	ts373	ts374	ts375	ts376
ts377	ts378	ts379	ts380	ts381	ts382	ts383	ts384

Индексы Set P12. 96-луночный планшет.

Индексы Set P12 (ts1441 – ts1536)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ts1441	ts1449	ts1457	ts1465	ts1473	ts1481	ts1489	ts1497	ts1505	ts1513	ts1521	ts1529
B	ts1442	ts1450	ts1458	ts1466	ts1474	ts1482	ts1490	ts1498	ts1506	ts1514	ts1522	ts1530
C	ts1443	ts1451	ts1459	ts1467	ts1475	ts1483	ts1491	ts1499	ts1507	ts1515	ts1523	ts1531
D	ts1444	ts1452	ts1460	ts1468	ts1476	ts1484	ts1492	ts1500	ts1508	ts1516	ts1524	ts1532
E	ts1445	ts1453	ts1461	ts1469	ts1477	ts1485	ts1493	ts1501	ts1509	ts1517	ts1525	ts1533
F	ts1446	ts1454	ts1462	ts1470	ts1478	ts1486	ts1494	ts1502	ts1510	ts1518	ts1526	ts1534
G	ts1447	ts1455	ts1463	ts1471	ts1479	ts1487	ts1495	ts1503	ts1511	ts1519	ts1527	ts1535
H	ts1448	ts1456	ts1464	ts1472	ts1480	ts1488	ts1496	ts1504	ts1512	ts1520	ts1528	ts1536

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Схема этапов исследования с использованием набора реагентов «АнеуНИПС»

Исследование внеклеточной ДНК методом NGS состоит из следующих этапов:

№	Этап	С использованием набора реагентов «АнеуНИПС»
1	Получение биологического материала	–
2	Выделение ДНК	1) Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК
3	Оценка качества и количества полученной ДНК	–
4	Подготовка ДНК к лигированию (репарация концов ДНК)	2) Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК
5	Промежуточная очистка фрагментов ДНК	2) Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК
6	Присоединение индексов	2) Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК и Набор индексов для идентификации библиотек нуклеиновых кислот (Индексы LIC) для комплекций L.48, L.96, P.48 и P.96
7	Промежуточная очистка фрагментов ДНК	2) Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК
8	Дополнительная амплификация	2) Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК
9	Финальная очистка библиотеки	2) Комплект реагентов для подготовки и очистки библиотек фрагментов ДНК
10	Оценка количества и качества полученной библиотеки	–
11	ПЦР обогащения	3) Комплект реагентов для секвенирования
12	Проведение секвенирования	3) Комплект реагентов для секвенирования
13	Регистрация и обработка результата	3) Комплект реагентов для секвенирования
14	Анализ полученных данных. Заключение	4) Программное обеспечение «СекВарио АнеуНИПС»

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В – Покупные изделия, входящие в состав набора реагентов АнеуНИПС

Производитель	Наименование покупного изделия	Наименование покупного изделия в составе набора реагентов АнеуНИПС	Комплектация набора реагентов АнеуНИПС, в составе которой есть покупное изделие
Vazyme, Китай	Proteinase K	Протеиназа К	Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК Комплектация С.48. Часть 1 из 9 Комплектация С.96 Часть 1 из 15 и Часть 2 из 15 Комплектация Р.48. Часть 1 из 4 Комплектация Р.96. Часть 1 из 6 и Часть 2 из 6
	Protease Dissolve Buffer	Буфер для разведения протеиназы	
	VAHTS Particles G	Магнитные частицы VAHTS Particles G	
	Buffer W2	Буфер W2	Комплект реагентов для выделения внеклеточной ДНК Комплектация С.48. Часть 2 из 9 Комплектация С.96 Часть 3 из 15 и Часть 4 из 15 Комплектация Р.48. Часть 2 из 4 Комплектация Р.96. Часть 3 из 6 и Часть 4 из 6
	Buffer B	Буфер В	
	Buffer SDS	Буфер SDS	
	Buffer W1	Буфер W1	
	Elution buffer	Буфер для элюции	
Illumina, США	High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles)	Картридж с реагентами	Комплект реагентов для секвенирования Комплектация С.48. Часть 6 из 9 Комплектация С.96. Часть 8 из 15 и Часть 9 из 15
	Library Dilution Buffer	Буфер HT1	Комплект реагентов для секвенирования Комплектация С.48. Часть 7 из 9 Комплектация С.96. Часть 10 из 15 и Часть 11 из 15
	High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles)	Проточная ячейка	Комплект реагентов для секвенирования Комплектация С.48. Часть 8 из 9 Комплектация С.96. Часть 12 из 15 и Часть 13 из 15
	Buffer Cartridge v2 (75 cycles)	Картридж с буфером	Комплект реагентов для секвенирования Комплектация С.48. Часть 9 из 9 Комплектация С.96. Часть 14 из 15 и Часть 15 из 15

Примечание – Все используемые при маркировке покупного изделия товарные знаки, логотипы и наименования являются собственностью их соответствующих правообладателей.