

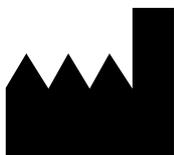
ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

комплекта реагентов для экстракции ДНК/РНК из биологического
материала

АмплиСенс® МАГНО-сорб-М

Только для исследовательских и иных немедицинских целей

АмплиСенс®



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



Только для исследовательских
и иных немедицинских целей

ОГЛАВЛЕНИЕ

НАЗНАЧЕНИЕ	3
ПРИНЦИП МЕТОДА	3
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ	4
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	4
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ	6
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	6
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК/РНК	8
СОСТАВ	8
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	8
Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную	8
Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот	11
Хранение очищенных НК	12
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	13
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	13
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	14

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

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

НАЗНАЧЕНИЕ

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

Объем исследуемого образца для экстракции: 200 мкл.

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

ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследуемые образцы обрабатываются лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики (магнитного сорбента), в результате чего происходит деструкция клеточных мембран, вирусных оболочек и других биополимерных комплексов и высвобождение нуклеиновых кислот (НК) и клеточных компонентов. Растворенная ДНК/РНК связывается с частицами сорбента, в то время как другие

компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются с отмывкой после осаждения сорбента с помощью магнитной силы. При последующем добавлении к магнитному сорбенту буфера для элюции происходит переход НК в раствор с поверхности сорбента, который затем отделяется от раствора НК магнитной силой.

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

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

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

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

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

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

При работе необходимо всегда выполнять следующие

требования:

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

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

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

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

Сведения о безопасности комплекта реагентов и Листы безопасности реагентов (SDS – safety data sheet) доступны по запросу.

СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

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

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

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

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

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

При использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот:

14. Автоматическая станция для экстракции НК Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd. («Ханчжоу Аошенг Инструментс Ко., Лтд.»), Китай).
15. Набор расходных материалов к используемой автоматической станции в соответствии с рекомендациями производителя, в том числе для магнитоперемешивающей станции:
 - 96-луночные гребенки наконечников;
 - 96-луночные планшеты с глубокими лунками;
 - 96-луночный планшет для элюции;
 - самоклеящаяся пленка для планшетов, стерильная.
16. Одноразовые полипропиленовые или полистирольные пробирки объемом от 1,5 до 5 мл с крышками (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные) – для приготовления требуемого объема смеси магнетизированной силики.
17. Одноразовые наконечники с фильтрами для дозаторов переменного объема до 100 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).
18. Одноразовые наконечники с фильтрами для дозаторов переменного объема до 1000 мкл (например, Biofil, «Гуанчжоу Джет Био-Филтрэйшн Ко., Лтд.»), Китай, или аналогичные).
19. Автоматические одноканальные дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
20. Автоматические 8-канальный дозатор переменного объема (например, «Эппендорф», США, или аналогичные).

21. Резервуары (ванночки) для заполнения 8-канальных дозаторов (например, SPL LifeScience Co, Ю. Корея, или аналогичные).

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК/РНК

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

СОСТАВ

Комплект реагентов **АмплиСенс® МАГНО-сорб-М вариант 100** включает:

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

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

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

ВНИМАНИЕ! Лизирующий раствор МАГНО-сорб имеет резкий запах. Работу проводить в ламинарном боксе.

Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную

1. Лизирующий раствор МАГНО-сорб и раствор для

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

отмычки 5 прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов, магнетизированную силику ресуспендировать на вортексе.

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

Таблица 1

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

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

4. Внести в пробирки по **40 мкл** тщательно ресуспендированной смеси **ВКО, компонента А и магнетизированной силики** (в случае изменения объема ВКО вносимый объем смеси должен быть пересчитан).
5. Добавить в пробирки по **600 мкл лизирующего раствора МАГНО-сорб**.
6. Добавить в каждую пробирку с лизирующим раствором МАГНО-сорб по **200 мкл исследуемых образцов и контролей**, используя для каждого образца отдельный наконечник с фильтром, и перемешать на вортексе.

Примечание – Допускается изменение объемов образцов и контролей в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

7. Инкубировать пробирки при температуре **60 °С** в течение **10 мин**, периодически встряхивая на вортексе.
8. Перемешать содержимое пробирок, кратким центрифугированием осадить капли. Поставить пробирки в магнитный штатив. Инкубировать **5 мин**.

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

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

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

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

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

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

13. Удалить надосадочную жидкость как описано выше.

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

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

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

17. Полностью удалить надосадочную жидкость как описано выше.

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

19. Добавить в пробирки по **100 мкл буфера для элюции**, закрыть крышки и перемешать на вортексе.

Примечание – Допускается изменение объема элюции в соответствии с инструкцией к набору реагентов для амплификации.

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

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

Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК/РНК.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных ДНК/РНК осуществляется без

снятия пробирок с магнитного штатива.

Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот

Подробную информацию по работе с автоматическими станциями смотрите в эксплуатационной документации производителя оборудования.

Экстракция с помощью магнитоперемешивающей станции Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co.,Ltd., Китай).

Для экстракции следует использовать только протоколы, расположенные на сайте amplisens.ru.

ВНИМАНИЕ! Протокол экстракции для автоматической станции содержит специфические параметры, недоступные при экстракции вручную.

1. **Лизирующий раствор МАГНО-сорб и раствор для отмывки 5** прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов, магнетизированную силику ресуспендировать на вортексе.
2. Отобрать необходимое количество 96-луночных планшетов, совместимых с прибором, промаркировать в соответствии с протоколом.
3. Внести в планшеты согласно маркировке и числу экстрагируемых проб:
 - по **600 мкл** лизирующего раствора МАГНО-сорб в планшет с глубокими лунками,
 - по **500 мкл** раствора для отмывки 5 в планшет с глубокими лунками,
 - по **500 мкл** раствора для отмывки 4 в планшет с глубокими лунками,
 - по **100 мкл** буфера для элюции в планшет для элюции.

Примечание – Допускается увеличение объема элюции в соответствии с инструкцией к набору реагентов для амплификации.

4. В отдельной пробирке смешать из расчета на один образец:
 - **10 мкл ВКО** (если он предусмотрен для проведения исследования),
 - **10 мкл компонента А,**
 - **20 мкл магнетизированной силики.**

Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных

образцов плюс запас (например, при экстракции из 96 образцов рекомендуется готовить смесь на 100 экстракций, т.е. с запасом на 4 образца).

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

5. Внести в лунки с лизирующим раствором МАГНО-сорб по **40 мкл** тщательно ресуспендированной смеси (в случае изменения объема ВКО вносимый объем смеси должен быть пересчитан).

6. Внести в лунки с лизирующим раствором МАГНО-сорб и смесью по **200 мкл исследуемых образцов и контролей**, используя для каждого образца отдельный наконечник с фильтром, и перемешать на вортексе.

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

7. Выбрать протокол экстракции, установить в прибор подготовленные планшеты и планшет с гребенкой согласно подсказкам/указателям расстановки.

8. Запустить протокол экстракции НК.

9. При необходимости по окончании экстракции планшет для элюции, содержащий очищенные НК, заклеить самоклеящейся пленкой.

Хранение очищенных НК

Очищенная ДНК может храниться:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 недели;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение года.

Очищенная РНК может храниться:

- при температуре от 2 до 8 °С – до 4 ч;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 мес;
- при температуре не выше минус 68 °С – в течение года.

При экстракции вручную, для хранения очищенных НК необходимо, не захватывая осадок, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

При автоматической экстракции, для хранения очищенных НК при минусовой температуре необходимо перенести элюат в пробирку.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

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

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

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

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

Рекламации на качество комплекта реагентов направлять по адресу 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: obtk@pcr.ru. Отзывы и предложения о продукции АмплиСенс® вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Осторожно!



Код партии



Содержимого достаточно для проведения n тестов



Только для исследовательских и иных немедицинских целей



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к инструкции по применению



Предел температуры



Дата изготовления



Изготовитель

Лист вносимых изменений

Редакция	Место внесения изменений	Суть вносимых изменений
11.07.23 VA	Список сокращений	Добавлена расшифровка МУ, СанПин
	Меры предосторожности	СП 1.3.2322-08 заменен на СанПиН 3.3686-21
	Дополнительные материалы и оборудование	Добавлен список материалов и оборудования при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот
	Экстракция ДНК/РНК из исследуемых образцов	Добавлен порядок работы с использованием автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот
	Хранение очищенных НК	Подраздел добавлен
	Символы, используемые в печатной продукции	Изменены расшифровки символов в соответствии с ГОСТ 15223-1-2020