



Набор реагентов для экстракции ДНК из сырья и продуктов
растительного происхождения

«МагноПрайм ФИТО»

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2,
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	3
1. НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.....	3
2.1. Состав и комплектность.....	3
2.2. Принцип метода	4
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.....	4
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА.....	4
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ	5
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	7
6.1. Предварительная обработка образцов	7
6.2. Автоматическая методика экстракции НК.....	8
6.3. Ручная методика экстракции НК	8
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	9
7.1. Предварительная обработка	9
8. ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	10
8.1. Автоматическая методика экстракции.....	10
8.2. Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива	11
8.3. Ручная методика экстракции с использованием центрифугирования	12
8.4. Хранение очищенной ДНК.....	14
9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА ..	14
10. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	14
11. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	16

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	– дезоксирибонуклеаза
НК	– нуклеиновые кислоты

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «МагноПрайм ФИТО» (далее по тексту - набор) предназначен для экстракции ДНК из сырья растительного происхождения (образцы семян, круп, шрота), кормовых добавок, комбикормов, текстуратов, продуктов питания (заменители молока, печенье, каши, хлопья), содержащих компоненты растительного происхождения.

Набор может использоваться совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что запрограммирована последовательность действий, изложенная в данной инструкции.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Состав и комплектность

Состав набора и комплектность поставки указаны в таблице 1 и 2 соответственно.

Набор рассчитан на выделение ДНК из 96 образцов, включая контроли.

Таблица 1

Состав набора

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Буфер L¹  Опасно	67,2	1 флакон	Лизирующий раствор. Прозрачная жидкость ² .
Буфер F1¹  Опасно	67,2	2 флакона	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Буфер F2¹  Опасно	19,2	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Буфер P¹  Опасно	96,0	2 флакона	Раствор для подготовки образцов. Прозрачная жидкость.
МГС	0,96	2 пробирки	Сорбент (магнетизированная силика). Суспензия.
Буфер E	24,0	1 флакон	Раствор для элюции. Прозрачная жидкость.

¹ Реагенты содержат опасные вещества. Информацию по опасным веществам и мерам предосторожности при работе с реагентами см. в разделе инструкции «Меры предосторожности и предупреждения».

² При хранении Буфера L возможно образование осадка в виде кристаллов.

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов	–	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: http://www.nextbio.ru/reagents/	1
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: http://www.nextbio.ru/passport/	1

2.2. Принцип метода

Для экстракции ДНК используются образцы, предварительно обработанные с использованием Буфера Р. Подготовленные образцы обрабатываются лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики – магнитного сорбента. В результате происходит деструкция клеточных мембран и других биополимерных комплексов и высвобождение ДНК. Растворенная ДНК связывается с частицами сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются при осаждении сорбента на магнитном штативе/стержне или с использованием центрифуги и с последующими отмывками сорбента. При добавлении буфера для элюции ДНК к магнитному сорбенту происходит переход ДНК с поверхности силики в раствор, который затем отделяется от частиц сорбента магнитной силой либо центрифугированием.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль этапа экстракции ДНК осуществляется одновременно с оценкой достоверности результатов этапа амплификации.

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы, предусмотренные используемым ПЦР-набором. Результаты исследования контрольных образцов должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

4.1. Набор «МагноПрайм ФИТО» не предназначен для диагностики *in vitro*.

4.2. Набор предназначен для экстракции ДНК только из исследуемого материала, указанного в разделе «Назначение». Применение набора для выделения ДНК из другого вида растительного материала не гарантирует эффективности действия методики, лежащей в основе работы набора, и может привести к получению недостоверного результата.

4.3. Необходимо соблюдать требования к отбору, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала, указанные в разделе

«Исследуемый материал». Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции ДНК.

4.4. Применение набора возможно только персоналом, обученным правилам работы в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические исследования.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна выполняться в лаборатории с соблюдением 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».

5.2. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор строго по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов анализа.

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах), начиная работу в зоне для экстракции и продолжая в зоне для амплификации и детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром³.

- Набор предназначен для однократного применения для проведения экстракции ДНК из указанного количества образцов (см. раздел «Состав и комплектность»).

- К работе с набором допускается только персонал, обученный правилам работы в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические исследования.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не смешивать реагенты из разных серий набора.

- Не использовать набор 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.

³ Для удаления надосадочной жидкости в процессе экстракции используются одноразовые наконечники без фильтра.

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

- Входящие в состав набора Буфер E, МГС содержат не более 1% веществ, классифицируемых как опасные, и не требуют соблюдения специальных мер предосторожности, кроме указанных в данном разделе.

- Входящие в состав набора реагенты Буфер L, Буфер F1, Буфер F2, Буфер P классифицируются как опасные. Вещества, которые повлияли на их классификацию, а также коды заявлений об опасности и мер предосторожности, требуемых при работе с данными реагентами, указаны в таблице 3. Расшифровка кодов представлена в таблице 4.

Таблица 3

Заявления об опасности и меры предосторожности при работе с Буфером L, Буфером F1, Буфером F2 и Буфером P

Реагент	Опасные вещества	Код заявления об опасности	Код меры предосторожности
Буфер L	изопропанол, гуанидин хлорид, гуанидин тиоцианат, тритон X-100, 1-тиоглицерол	H225, H302, H311, H315, H319, H332, H336, H411, EUN032	P210, P241, P242, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P332+P313, P337+P313, P362+P364, P370+P378, P403+P233, P501
Буфер F1	изопропанол	H225, H319, H336	P210, P241, P242, P261, P264, P271, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P233, P501
Буфер F2	изопропанол, ацетон	H225, H319, H336, H360, EUN066	P210, P241, P242, P261, P264, P271, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P233, P501
Буфер P	цетилтриметиламмония бромид	H302, H315, H318	P264, P270, P280, P312, P302+P352, P332+P313, P305+H351+P338+P310, P362+P364, P501

Таблица 4

Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. H302: Вредно при проглатывании. H311: Токсично при контакте с кожей. H315: Вызывает раздражение кожи. H318: Вызывает серьезное повреждение глаз. H319: Вызывает серьезное раздражение глаз. H332: Вредно при вдыхании. H336: Может вызывать вялость или сонливость.	H360: Может отрицательно повлиять на способность к деторождению или на неродившегося ребёнка. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUN032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы. EUN066: Повторяющееся воздействие может вызвать сухость или растрескивание кожи.
Меры предосторожности	
P210: Хранить вдали от источников тепла, горячих поверхностей, искр, открытого пламени и других источников воспламенения. Не курить. P241: Использовать взрывобезопасное электрическое оборудование. P242: Используйте только не искрящие инструменты. P261: Избегать вдыхания паров.	P332+P313: При раздражении кожи: обратиться к врачу. P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией. P362+P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.

Меры предосторожности

P264: Вымойте руки после работы тщательно.
P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.
P271: Используйте только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении.
P273: Избегать попадания в окружающую среду.
P280: Пользоваться защитными перчатками и средствами защиты глаз.
P302+P352: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды.
P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой или принять душ.

P305+P351+P338+P310: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз снять их и продолжить промывание водой. Немедленно обратиться за медицинской помощью.
P312: Обратиться к врачу при плохом самочувствии.
P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения.
P403+P233: Хранить в хорошо вентилируемом месте в плотно закрытой/герметичной упаковке.
P501: Утилизировать содержимое в соответствии с требованиями федерального, регионального и местного законодательства в отношении утилизации опасных отходов.

- Листы безопасности реагентов, входящих в состав набора, доступны по запросу.

- Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека. При аварийных ситуациях возможно причинение вреда при попадании на кожу и слизистую оболочку глаз, при вдыхании и при проглатывании.

5.3. Специфические воздействия набора на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.

Ацетон, входящий в состав реагента Буфер F2, обладает эмбриотропным и гонадотропным действием.

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Предварительная обработка образцов

6.1.1. Дистиллированная вода (для замачивания сухих, протравленных и обработанных репеллентами семян и зерен и промывания продуктов с высоким содержанием сахаров).

6.1.2. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл.

6.1.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.1.4. Ступка с пестиком или автоматический гомогенизатор с сопутствующими расходными материалами.

6.1.5. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 3 000 g.

6.1.6. Вортекс.

6.1.7. Автоматический дозатор переменного объема на 1000 мкл.

6.2. Автоматическая методика экстракции НК

ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует использовать только одноразовые полипропиленовые пробирки и наконечники, сертифицированные на отсутствие ДНКаз.

6.2.1. Автоматическая станция для экстракции НК Microlab STARLet (Hamilton Bonaduz AG, Швейцария).

6.2.2. Комплект расходных материалов для автоматической станции для экстракции НК согласно инструкции Производителя.

6.2.3. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл.

6.2.4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.5. Вортекс.

6.2.6. Автоматический дозатор переменного объема на 1000 мкл.

6.2.7. Холодильник от 2 до 8 °С.

6.2.8. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки.

6.2.9. Контейнер для сброса материалов.

6.3. Ручная методика экстракции НК

6.3.1. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл, свободные от ДНКаз.

6.3.2. Одноразовые наконечники, свободные от ДНКаз, для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл.

6.3.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 200 мкл.

6.3.4. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.

6.3.5. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл - при проведении экстракции с использованием магнитного штатива (см. раздел «Экстракция ДНК из исследуемого материала», п. 8.2).

6.3.6. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10 000 g - при проведении экстракции с использованием центрифугирования (см. раздел «Экстракция ДНК из исследуемого материала», п. 8.3).

6.3.7. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.3.8. Вортекс.

6.3.9. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева не

менее чем до 65 °С.

6.3.10. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.

6.3.11. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.3.12. Холодильник от 2 до 8 °С.

6.3.13. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки.

6.3.14. Контейнеры для сброса материалов.

7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Материалом для исследования служат образцы семян, круп, шрота, кормовых добавок, комбикормов, текстуратов, продуктов питания (заменители молока, печенье, каши, хлопья), содержащих компоненты растительного происхождения.

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы следует ознакомиться с методическими указаниями МУ 2.3.2.1917-04 «Порядок и организация контроля за пищевой продукцией, полученной из/или с использованием сырья растительного происхождения, имеющего генетически-модифицированные аналоги». Отбор, транспортирование и хранение исследуемых образцов следует проводить в соответствии с требованиями ГОСТов на соответствующий вид продукции.

7.1. Предварительная обработка

ВНИМАНИЕ! Все исследуемые образцы должны пройти процедуру предварительной подготовки в соответствии с рекомендуемой ниже процедурой.

7.1.2. Исследуемые образцы массой не менее 100 мг растереть пестиком в ступке до гомогенного состояния.

Примечания

1) Гомогенизацию образцов плотных продуктов рекомендуется проводить с использованием автоматических гомогенизаторов и сопутствующих расходных материалов.

2) Сухие, протравленные, обработанные репеллентами против птиц и грызунов семена и зерна рекомендуется замачивать в дистиллированной воде в течение суток.

3) Продукты с высоким содержанием сахаров рекомендуется обработать для удаления избытков углеводов следующим образом: количество образцов, отобранное для гомогенизации, предварительно промыть дистиллированной водой 2-3 раза, каждый раз удаляя воду, оставшуюся плотную массу использовать для гомогенизации.

7.1.3. К гомогенизированным образцам добавить Буфер Р⁴ из расчета 1 мл Буфера Р на каждые 50 мг образца. В зависимости от консистенции образца продолжить гомогенизацию в ступке до получения однородной суспензии, либо тщательно перемешать содержимое пробирок на вортексе.

7.1.4. В чистые промаркированные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл отобрать 1,2 мл полученной суспензии. Центрифугировать пробирки с исследуемыми образцами при 3 000 g в течение 5 мин.

8. ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Экстракция ДНК должна проводиться при нормальных показателях микроклимата лаборатории⁵:

- температура окружающего воздуха от 20 до 28 °С;
- относительная влажность от 40 до 75 %.

8.1. Автоматическая методика экстракции

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены отрицательный и положительный контроли⁶, то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

Автоматическую экстракцию проводить с использованием роботизированной станции Microlab STARlet (Hamilton Bonaduz AG, Швейцария) в соответствии с разделом «Протокол экстракции: «МагноПрайм ФИТО»» руководства по эксплуатации данной автоматической станции.

Перед выполнением протокола надосадочную жидкость в объеме 250–350 мкл, полученную после предварительной обработки образцов, очень аккуратно (не затрагивая взвешенные частицы и капли жира) перенести с использованием отдельных наконечников с аэрозольными барьерами в новые промаркированные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл. Пробирки установить на борт станции и запустить протокол экстракции.

Элюат, полученный в результате выполнения протокола, содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

⁴ Реагент входит в состав набора «МагноПрайм ФИТО».

⁵ Указаны допустимые нормы температуры и относительной влажности воздуха в рабочей зоне производственных помещений в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

⁶ Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

8.2. Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены отрицательный и положительный контроли⁵, то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.2.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

8.2.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный и положительный контроли. Промаркировать.

8.2.1.2. Перемешать взбалтыванием Буфер L, Буфер F1, Буфер F2, Буфер P и Буфер E.

8.2.1.3. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.2.1.4. Допускается внесение всего содержимого 2-х пробирок с **МГС** во флакон с **Буфером L**. Полученную суспензию тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 25 °С.

8.2.2. Процедура экстракции ДНК

8.2.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов:

а) по **20 мкл МГС** и по **700 мкл Буфера L**;

или

б) по **720 мкл** подготовленной смеси **МГС** и **Буфера L**.

8.2.2.2. Внести в пробирки предварительно обработанные **исследуемые образцы** в объеме **200 мкл** и **контрольные образцы** в объеме **100-200 мкл⁷**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.2.2.3. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**.

8.2.2.4. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.2.2.5. Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.2.2.6. Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.

8.2.2.7. Добавить в каждую пробирку по **700 мкл Буфера F1**. Плотно закрыть

⁷ Требуемый для экстракции объем образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

крышки, повторить пункты 8.2.2.4 - 8.2.2.6.

8.2.2.8. Повторно добавить в пробирки по **700 мкл Буфера F1**. Плотно закрыть крышки, повторить пункты 8.2.2.4 - 8.2.2.6.

8.2.2.9. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера F2**. Плотно закрыть крышки, повторить пункты 8.2.2.4 - 8.2.2.6.

8.2.2.10. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, оставить их открытыми на **10 мин** для проведения сушки.

8.2.2.11. Добавить в пробирки от **100 до 250 мкл Буфера E** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации). Плотно закрыть крышки.

8.2.2.12. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.2.2.13. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °C** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.2.2.14. Осадить капли на вортексе и переставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.2.2.15. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке реакции амплификации.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных ДНК для проведения амплификации осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

8.3. Ручная методика экстракции с использованием центрифугирования

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены отрицательный и положительный контроли⁸, то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.3.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

8.3.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный и положительный контроли. Промаркировать.

8.3.1.2. Перемешать взбалтыванием Буфер L, Буфер F1, Буфер F2, Буфер P и Буфер E.

8.3.1.3. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

⁸ Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

8.3.1.4. Допускается внесение всего содержимого 2-х пробирок с **МГС** во флакон с **Буфером L**. Полученную суспензию тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 25 °С.

8.3.2. Процедура экстракции ДНК

8.3.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов:

а) по **20 мкл МГС** и **700 мкл Буфера L**;

или

б) по **720 мкл** подготовленной **смеси МГС и Буфера L**.

8.3.2.2. Внести в пробирки предварительно обработанные **исследуемые образцы** в объеме **200 мкл** и **контрольные образцы** в объеме **100-200 мкл⁹**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.2.3. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**.

8.3.2.4. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.3.2.5. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.3.2.6. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.

8.3.2.7. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера F1**. Плотнo закрыть крышки, повторить пункты 8.3.2.4 - 8.3.2.6.

8.3.2.8. Повторно добавить в пробирки по **700 мкл Буфера F1**. Плотнo закрыть крышки, повторить пункты 8.3.2.4 - 8.3.2.6.

8.3.2.9. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера F2**. Плотнo закрыть крышки, повторить пункты 8.3.2.4 - 8.3.2.6.

8.3.2.10. Открыть крышки и оставить пробирки открытыми на **10 мин** для проведения сушки.

8.3.2.11. Добавить в пробирки от **100 до 250 мкл Буфера E** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), плотно закрыть крышки.

8.3.2.12. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.2.13. Поместить пробирки в термостат с температурой **65°С** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.3.2.14. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.3.2.15. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к

⁹ Требуемый для экстракции объем образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

постановке реакции амплификации.

ВНИМАНИЕ! Внесение ДНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования проба не внесена в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

8.4. Хранение очищенной ДНК

Очищенная ДНК может храниться при температуре от 2 до 8 °С в течение недели, при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение 6 месяцев и при температуре не выше минус 68 °С в течение года. Для этого необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

9.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Не допускается замораживание реагентов.

Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

9.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора. Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Смесь, приготовленную из МГС и Буфера L, хранить при температуре от 2 до 25 °С не более 2 месяцев.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

10. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора реагентов «МагноПрайм ФИТО» направлять в адрес производителя ООО «НекстБио»: 111394 г. Москва, ул. Полимерная, 8 стр. 2, тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru.

11. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Номер по каталогу



Дата изготовления



Код партии



Использовать до



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов



Температурный диапазон



Обратитесь к инструкции по применению



Символы опасности



Изготовитель



Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению