

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выделения ДНК из парафиновых срезов («Extra-DNA»)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Полное название набора: «Набор реагентов для выделения ДНК из парафиновых срезов».

1.2. Краткое название набора: «Extra-DNA».

1.3. Область применения – клиническая лабораторная диагностика, генетика.

1.4. Набор предназначен только для применения *in vitro*.

1.5. Набор реагентов Extra-DNA предназначен для выделения тотальной ДНК из парафиновых срезов, которую в дальнейшем можно использовать для анализа необходимых генов с помощью ПЦР.

1.6. Набор рассчитан на выделение ДНК из 100 парафиновых срезов.

2. ТРЕБОВАНИЯ К ПЕРСОНАЛУ

2.1. Набор реагентов Extra-DNA предназначен для использования лабораторными специалистами с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, прошедшими подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами III-IV групп патогенности и получившим дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики.

3. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора Extra-DNA входит 9 емкостей различного объема:

Таблица 1

Компонент	Описание	Тип фасовки	Кол-во, шт.	Объем компонента, мл
Раствор 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Стеклянные флаконы вместимостью 100 мл	2	75 мл
Раствор 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Пластиковые флаконы вместимостью 125 мл	1	120 мл
Раствор 3 (для экстракции ДНК)	Полупрозрачная жидкость с осадком	Пластиковые пробирки вместимостью 2 мл с прозрачной крышкой	6	1,7 мл

Пробирки, флаконы с компонентами набора и инструкция по применению помещены в герметично закрывающийся прозрачный пакет из полипропилена.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

4.1. Потенциальный риск применения набора Extra-DNA - класс 2а.

4.2. Реагент «Раствор 1» содержит гептан – горючее вещество.

- 4.3. Компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.
- 4.4. При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905 и общие требования безопасности к наборам реагентов для *in vitro* диагностики в соответствии с ГОСТ ISO 14971.
- 4.5. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала, с соблюдением санитарно-эпидемических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».
- 4.6. Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- 4.7. Работу с набором реагентов и анализируемыми клиническими образцами следует проводить в халатах и одноразовых медицинских перчатках без талька.
- 4.8. Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.
- 4.9. Утилизировать неиспользованные реактивы необходимо в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».
- 4.10. Всё лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда и др., а также рабочие растворы должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.
- 4.11. Поверхности рабочих столов и боксы следует обязательно, до и после проведения работ, облучать бактерицидными облучателями в течение одного часа.
- 4.12. Все работы должны выполняться только с использованием одноразовых наконечников с фильтром для полуавтоматических пипеток. Пробирки и наконечники должны быть свободны от нуклеаз (маркировка «DNase/RNase free»). Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.
- 4.13. Лабораторная посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.
- 4.14. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.
- 4.15. Не использовать набор реагентов:
- при нарушении условий транспортирования и хранения;
 - при несоответствии внешнего вида компонентов, указанному в паспорте к набору реагентов;
 - при нарушении внутренней упаковки компонентов набора;
 - по истечению срока годности набора.
5. **ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ:**
- термоблок с возможностью нагрева пробирок в диапазоне температур от 60°C до 95°C и с функцией встряхивания образцов;
 - центрифуга настольная на 16000 об/мин для пробирок вместимостью 1,5 мл;
 - микроцентрифуга/вортекс;
 - микротом;
 - пробирки пластиковые вместимостью 1,5 мл (типа Эппендорф);

- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым объемом отбора жидкостей: 20-200 мкл и 100-1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- штативы для пробирок 1,5 мл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических пипеток с маркировкой “RNAase-free, DNAase-free” объемом 20-200 мкл; 100-1000 мкл;
- холодильник фармацевтический типа Sanyo MPR-414F или бытовой с морозильной камерой, температура морозильной камеры не выше -18°C ;
- перчатки медицинские без талька;
- контейнер с дезинфицирующим раствором.

6. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ

6.1. С образца, залитого в парафиновый блок, с помощью микротомы или скальпеля снять 5 мкм внешнего слоя (площадь образца примерно 50 мм^2), и поместить в пробирку, содержащую 500 мкл раствора 1.

6.2. Инкубировать 2 минуты, оценить состояние среза образца. **Если парафин не растворился, успешность дальнейшего выделения из данного образца парафинового блока не гарантируется.**

6.3. С образца, залитого в парафиновый блок, с помощью микротомы или скальпеля снять два среза толщиной по 5 мкм внешнего слоя, и поместить в новую пробирку.

6.4. Добавить 400 мкл раствора 1 и перемешать на вортексе.

6.5. Инкубировать 10 минут при температуре $+60^{\circ}\text{C}$ и встряхивании.

6.6. Добавить 100 мкл раствора 2 и перемешать на вортексе.

6.7. Инкубировать 10 минут при температуре $+60^{\circ}\text{C}$ и встряхивании.

6.8. Центрифугировать 30 секунд при 10000 об/мин.

6.9. Отобрать надосадочную жидкость. К осадку добавить 1000 мкл раствора 2 и перемешать на вортексе.

6.10. Центрифугировать 30 секунд при 10000 об/мин.

6.11. Тщательно отобрать надосадочную жидкость. Высушить осадок на воздухе в течение 20 минут.

6.12. Добавить 100 мкл раствора 3 и перемешать на вортексе.

6.13. Инкубировать 30 минут в термоблоке при $+95^{\circ}\text{C}$.

6.14. Перемешать на вортексе.

6.15. Центрифугировать 10 минут при 10000 об/мин

6.16. Надосадочную жидкость, которая содержит экстрагированную ДНК, перенести в чистую пробирку. Полученный образец готов к использованию для проведения ПЦР. Экстракты ДНК можно хранить в морозильной камере холодильника при температуре минус 20°C не более 1 месяца или при температуре минус 70°C не более 1 года.

7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ЭКСПЛУАТАЦИИ

7.1. Транспортирование набора следует производить всеми видами крытого транспорта при температуре $2-8^{\circ}\text{C}$.

7.2. Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям ТУ при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных ТУ.

7.3. Срок годности набора - 12 месяцев со дня приемки набора отделом контроля качества предприятия-изготовителя. Срок годности указан на маркировке реактивов и набора.

7.4. Набор реактивов должен храниться в холодильнике при температуре 2-8°C, пробирки с «Раствором 3 для экстракции ДНК» должны храниться в морозильнике при температуре минус 20°C в течение всего срока эксплуатации.

7.5. Все реактивы перед использованием необходимо тщательно перемешать.

7.6. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

8. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

8.1. Упаковка набора и неиспользованные компоненты набора относятся к отходам класса А и утилизируются с бытовыми отходами. Отработанные компоненты набора относятся к отходам класса Б. Удалять неиспользованные, просроченные или отработанные реактивы из набора необходимо в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

По вопросам качества набора «Extra-DNA» следует обращаться в ООО «ГеноТехнология» по адресу: 117485, Москва, ул. Профсоюзная, д. 104, тел. (499)530-01-95, (499)502-94-17, (499)530-02-58, e-mail: info@genetechnology.ru.