СОГЛАСОВАНО
Заместитель Министра здравоохранения
Республики Беларусь
_____ А.А. Тарасенко
«26» 06 2023 г.

УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО «АртБиоТех»
_____ А.Н. Рымко
«__» _____ 20__ г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагентов для амплификации
ТУ BY 192743351.021-2020, изм. № 1

«СОГЛАСОВАНО»
Заместитель директора
РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»
_____ М.И. Злотникова
«16» 06 2023 г.

«СОГЛАСОВАНО»
Первый проректор
Государственное учреждение образования
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»
_____ Д.В. Платонов
«__» _____ 20__ г.

«СОГЛАСОВАНО»
Директор
Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»
_____ Рожко А.В.
«13» 06 2023 г.

«

«СОГЛАСОВАНО»
Главный врач
Учреждение здравоохранения «Городская клиническая инфекционная больница»
_____ Н.Н. Юровский
«13» 06 2023 г.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагентов для амплификации
по ТУ BY 192743351.021-2020, изм. № 1

НАЗНАЧЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Реагенты предназначены для амплификации ДНК/РНК, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и с детекцией результатов в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ) в лабораторной клинической практике.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАГЕНТА

Для удобства пользователя реагенты выпускаются в различных вариантах фасовки в зависимости от входящих в комплект компонентов (таблица 1). Все входящие в состав реагенты свободны от ДНКаз и РНКаз. Комплектации реагентов в зависимости от фасовки поставляются с протоколом применения, остальные протоколы могут не входить в инструкцию.

Таблица 1. Варианты фасовки реагентов для амплификации

Название комплектации	Компоненты	Каталожный номер варианта фасовки, состав				
Реагенты для амплификации:						
Ревертаза	В составе:	**ArtMMLV**	**ArtMMLV-Total**	**ArtMix RT**	**ArtMix RT Color**	**ArtMMLV-легкий**
	ArtMMLV	1	1	-	-	1
	ArtMix RT	-	-	1	1	10
	Буфер TG	1	1	-	-	-
	Раствор $MgCl_2$	1	1	-	-	-
	Олигонуклеотиды	-	1	-	-	1
	Вода	-	1	-	-	-
	дНТФ	-	1	-	-	-
ДНК-полимераза	В составе:	**SmArt**	**Flash**	**Tornado**	**ArtTaq**	**ArtMix**
	ДНК-полимераза	1	1	1	1	-
	ArtMix	-	-	-	-	1
	Раствор $MgCl_2$	1	1	1	1	-
	Буфер для SmArt ДНК-полимеразы	1	-	-	-	-
	Буфер для Flash ДНК-полимеразы	-	1	-	-	-
	Буфер для Tornado ДНК-полимеразы	-	-	1	-	-
	Буфер для ArtTaq ДНК-полимеразы	-	-	-	1	-
Нуклеотидтрифосфаты	В составе:	**Rd**			**RSd**	
	Нуклеотидтрифосфаты	1			4	
Олигонуклеотид	В составе:	**ON**			**OM**	
	Олигонуклеотид	1			-	
	Модифицированный олигонуклеотид	-			1	

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- амплификатор с детекцией результатов в режиме «реального времени»;
- ПЦР-бокс;
- центрифуга/вортекс;
- набор дозаторов переменного объема;
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- одноразовые полипропиленовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5–2,0 мл;
- оптические пробирки для ПЦР-РВ, адаптированные для используемого амплификатора;
- штативы для пробирок и наконечников;
- холодильник от +2 °С до +8 °С с морозильной камерой от минус 24 °С до минус 16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников;
- комплект средств для обработки рабочего места.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

- Рутинная ПЦР;
- ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени;
- «Низкокопийная» ПЦР;
- Высокоспецифичная ПЦР и амплификация длинных фрагментов ДНК;
- Синтез кДНК;
- ОТ-ПЦР;
- ДНК-мечение;
- Секвенирование ДНК;
- другие ферментативные реакции.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ РЕАГЕНТОВ В РЕАКЦИИ

1. Перед использованием разморозить и тщательно перемешать все компоненты ПЦРсмеси.
2. Приготовить реакционную смесь согласно применяемому протоколу. Варианты протоколов представлены в приложении и зависят от выбранной фасовки.
3. Провести реакцию ПЦР согласно выбранному протоколу.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Транспортирование реагентов осуществляется при температуре окружающей среды, но не выше 30 °С (до 5 суток) или при температуре +2–8°С (до 30 суток). Реагенты для амплификации хранятся при температуре от –16 °С до –24 °С

Срок годности – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагентов для выделения
по ТУ BY 192743351.021-2020, изм. № 1

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплектации реагентов для выделения РНК/ДНК предназначены для экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов (в том числе мазков из носоглотки и ротоглотки), лейкоцитарной фракции цельной крови, а также из биологических жидкостей (мочи, эякулята, секрета простаты, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ) и проб из ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты для выделения позволяют проводить очистку РНК/ДНК как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 15 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектации реагентов, рассчитаны на проведение 100/96/24 исследований, представлены в таблице 1.

Название комплектации	Компоненты	Каталожный номер варианта фасовки, состав									
Реагенты для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»	Комплектации:	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
	В составе:	100	100	96	96	96	96	100	96	96	24
	Магнитный сорбент	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-
	Сорбирующий раствор	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-
	Сорбирующий раствор с магнитным сорбентом	-	-	-	1	-	1	-	-	1	1
	Промывочный раствор 1	-	1	1	1	-	-	1	1	1	1
	Промывочный раствор 2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Элюирующий раствор	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Буфер для хранения	-	-	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*
	Концентрирующий раствор	-	-	-	-	-	-	1*	1*	1*	-
	Лизирующий раствор	-	-	-	-	-	-	1*	1*	1*	-
	Гребенка для магнитных стержней	-	-	1	1	1	1	-	1	1	3
	Планшеты на 96 лунок	-	-	5	5	4	4	-	5	5	1
	ВКО	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*
Реагенты для выделения ДНК «АртДНК Магнит»	Комплектации:	**1**			**2**				**3**		
	В составе:	100			96				96		
	Магнитный сорбент	1			1				-		
	Сорбирующий раствор	1			1				1		
	Промывочный раствор	1			1				1		
	Элюирующий раствор	1			1				1		
	ВКО	1*			1*				1*		
	Гребенка для магнитных стержней	-			1				1		
	Планшеты на 96 лунок	-			4				4		

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами для выделения необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный или ПЦР-бокс;
- твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
- магнитный штатив (при его использовании);
- вортекс;
- набор дозаторов переменного объема;
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5–2,0 мл;
- штативы для пробирок и наконечников;
- холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от минус 24 °С до минус 16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников;
- комплект средств для обработки рабочего места;
- автоматизированная станция (при ее использовании).

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Все образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

Провести выделение согласно методическим рекомендациям, прилагаемых к набору.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре 25 – 37 °С (до 5 суток). Реагенты транспортируют любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагентов для выделения ДНК «АртДНК Магнит»
Комплектация 1

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплектация 1 реагентов для выделения ДНК «АртДНК Магнит» предназначена для экстракции суммарной ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, а также из биологических жидкостей (мочи, секрета предстательной железы, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ, спермы), фекалий, кровососущих членистоногих, проб из ОСОЧ, биоптатов и аутоптатов для последующего исследования методом ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртДНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим эффективно выделять ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртДНК Магнит» позволяют проводить очистку ДНК как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки ДНК с использованием реагентов «АртДНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 15 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртДНК Магнит», рассчитанная на проведение 100 исследований, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртДНК Магнит»

Компонент	Объем, не менее
1. Магнитный сорбент	1 мл
2. Сорбирующий раствор	30 мл
3. Промывочный раствор	30 мл
4. Элюирующий раствор	15 мл
5. ВКО*	1 мл

* ВКО комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной ДНК с использованием реагентов «АртДНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать ДНК, пригодную для постановки ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртДНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный или ПЦР-бокс;
- твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
- магнитный штатив (при его использвоании);
- вортекс;
- набор дозаторов переменного объема;
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5–2,0 мл;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- штативы для пробирок и наконечников;
- холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от минус 24 °С до минус 16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников;
- комплект средств для обработки рабочего места;
- автоматизированная станция (при ее использовании).

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи, БАЛ, спермы, фекалий, кровососущих членистоногих, биоптатов и аутоптатов требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА МАГНИТНОМ ШТАТИВЕ

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В подходящей по объему емкости приготовить смесь, содержащую **Сорбирующий раствор, Магнитный сорбент и ВКО** (при его использовании), из расчета **300 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл ВКО** на проведение одного выделения. Полученную смесь перемешать.

II. В каждую пробирку объемом 1,5 или 2 мл внести по **320 мкл приготовленной смеси** (по 310 мкл, если ВКО не используется).

III. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Элюирующего раствора.

IV. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1–3 раза) перемешивании.

V. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

VI. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30-60 сек**. Не затрагивая магнитный сорбент аккуратно удалить надосадочную жидкость.

VII. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Промывочного раствора** и перемешать на вортексе.

VIII. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

IX. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30-60 сек**. Аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость. *На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.*

X. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1–3 раза) перемешивании.

XII. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XIII. Перенести пробирки на магнитный штатив **на 30-60 сек**. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК, готовую для постановки ПЦР.

XIV. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА ЦЕНТРИФУГЕ

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В подходящей по объему емкости приготовить смесь, содержащую **Сорбирующий раствор, Магнитный сорбент** и **ВКО** (при его использовании), из расчета **300 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл ВКО** на проведение одного выделения. Полученную смесь перемешать.

II. В каждую пробирку объемом 1,5 или 2 мл внести по **320 мкл приготовленной смеси** (по 310 мкл, если ВКО не используется).

III. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Элюирующего раствора.

IV. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1–3 раза) перемешивании.

V. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

VI. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Промывочного раствора** и перемешать на вортексе.

VII. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.

VIII. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

IX. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1–3 раза) перемешивании.

X. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин** Надосадочная жидкость содержит очищенную и ДНК, готовую для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XI. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В **Сорбирующий раствор** внести **Магнитный сорбент** и **ВКО** (если оно используется в тест-системе).

II. Разнести по лункам 1-го планшета **Сорбирующий раствор** с **Магнитным сорбентом** и **ВКО** (если оно используется в тест-системе) по **310 мкл** (или **320 мкл**, если используется **ВКО**).

III. Разнести по лункам 2-го планшета **Промывочный раствор** по **300 мкл.**

IV. Разнести по лункам 3-го планшета **Элюирующий раствор** по **100 мкл.**

V. В каждую лунку планшета с **Сорбирующим раствором** и **Магнитным сорбентом** и **ВКО** (если оно используется в тест-системе) добавить по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). *При необходимости в лунку для ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл ОКО (отрицательный контрольный образец, поставляется вместе с тест-системами).*

VI. Установить все планшеты в прибор.

VII. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе** в течение **2 мин** при без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Г) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

VIII. Запустить программу экстракции.

IX. После окончания работы прибора, планшет с Элюирующим раствором извлечь. Элюирующий раствор содержит очищенную ДНК, готовую для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

X. *Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртДНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре 25 – 37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртДНК Магнит» транспортируют любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртДНК Магнит» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности комплекта «АртДНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагентов для выделения ДНК «АртДНК Магнит»
Комплектация 2

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплектация 1 реагентов для выделения ДНК «АртДНК Магнит» предназначена для экстракции суммарной ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, а также из биологических жидкостей (мочи, секрета предстательной железы, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ, спермы), фекалий, кровососущих членистоногих, проб из ОСОЧ, биоптатов и аутоптатов для последующего исследования методом ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртДНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим эффективно выделять ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртДНК Магнит» позволяют проводить очистку ДНК как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки ДНК с использованием реагентов «АртДНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 15 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртДНК Магнит», рассчитанная на проведение 96 исследований, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртДНК Магнит»

Компонент	Объем, не менее
1. Магнитный сорбент	1 мл
2. Сорбирующий раствор	30 мл
3. Промывочный раствор	30 мл
4. Элюирующий раствор	15 мл
5. Планшеты на 96 лунок	4 шт.
6. Гребенка для магнитных стержней	1 шт.
7. ВКО*	1 мл

* ВКО комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной ДНК с использованием реагентов «АртДНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать ДНК, пригодную для постановки ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртДНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный или ПЦР-бокс;
- твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
- магнитный штатив (при его использвоании);
- вортекс;
- набор дозаторов переменного объема;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5–2,0 мл;
- штативы для пробирок и наконечников;
- холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от минус 24 °С до минус 16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников;
- комплект средств для обработки рабочего места;
- автоматизированная станция (при ее использовании).

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи, БАЛ, спермы, фекалий, кровососущих членистоногих, биоптатов и аутоптатов требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В **Сорбирующий раствор** внести **Магнитный сорбент** и **ВКО** (если оно используется в тест-системе).

II. Разнести по лункам 1-го планшета **Сорбирующий раствор** с **Магнитным сорбентом** и **ВКО** (если оно используется в тест-системе) по **310 мкл** (или **320 мкл**, если используется **ВКО**).

III. Разнести по лункам 2-го планшета **Промывочный раствор** по **300 мкл.**

IV. Разнести по лункам 3-го планшета **Элюирующий раствор** по **100 мкл.**

V. В каждую лунку планшета с **Сорбирующим раствором** и **Магнитным сорбентом** и **ВКО** (если оно используется в тест-системе) добавить по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). *При необходимости в лунку для ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл ОКО (отрицательный контрольный образец, поставляется вместе с тест-системами).*

VI. Установить все планшеты в прибор.

VII. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе** в течение **2 мин** при без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Г) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

VIII. Запустить программу экстракции.

IX. После окончания работы прибора, планшет с Элюирующим раствором извлечь. Элюирующий раствор содержит очищенную ДНК, готовую для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

X. *Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртДНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре 25 – 37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртДНК Магнит» транспортируют любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртДНК Магнит» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности комплекта «АртДНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагентов для выделения ДНК «АртДНК Магнит»
Комплектация 3

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплектация 1 реагентов для выделения ДНК «АртДНК Магнит» предназначена для экстракции суммарной ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, а также из биологических жидкостей (мочи, секрета предстательной железы, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ, спермы), фекалий, кровососущих членистоногих, проб из ОСОЧ, биоптатов и аутоптатов для последующего исследования методом ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртДНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим эффективно выделять ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртДНК Магнит» позволяют проводить очистку ДНК как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки ДНК с использованием реагентов «АртДНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 15 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртДНК Магнит», рассчитанная на проведение 96 исследований, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртДНК Магнит»

Компонент	Объем, не менее
1. Сорбирующий раствор	0,3 мл х 96
2. Промывочный раствор	0,3 мл х 96
3. Элюирующий раствор	0,1 мл х 96
4. Гребенка для магнитных стержней	1 шт.
5. ВКО*	1 мл
5. Планшеты на 96 лунок	4 шт.

* ВКО комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной ДНК с использованием реагентов «АртДНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать ДНК, пригодную для постановки ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртДНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный или ПЦР-бокс;
- твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
- магнитный штатив (при его использвоании);
- вортекс;
- набор дозаторов переменного объема;
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5–2,0 мл;
- штативы для пробирок и наконечников;
- холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от минус 24 °С до минус 16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников;
- комплект средств для обработки рабочего места;
- автоматизированная станция (при ее использовании).

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи, БАЛ, спермы, фекалий, кровососущих членистоногих, биоптатов и аутоптатов требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

*0. В случае выпадения осадка прогреть планшет с **Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом** при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

*I. В каждую лунку планшета с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом внести по **10 мкл ВКО** (если он используется в тест-системе).*

II. В каждую лунку планшета с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом добавить по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). *При необходимости в лунку для ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл ОКО (отрицательный контрольный образец, поставляется вместе с тест-системами).*

III. Установить все планшеты в прибор, предварительно сняв защитную пленку.

IV. Запрограммировать прибор*:

А) Инкубация образца в Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение 5 **мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Г) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

V. Запустить программу экстракции.

VI. После окончания работы прибора, планшет с Элюирующим раствором извлечь. Элюирующий раствор содержит очищенную ДНК, готовую для постановки ПЦР.

***VII.** Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртДНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре 25 – 37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртДНК Магнит» транспортируют любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртДНК Магнит» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности комплекта «АртДНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»
Комплектация 1

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит» предназначены для экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов (в том числе мазков из носоглотки и ротоглотки) и проб из ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртНК Магнит» позволяют проводить очистку РНК/ДНК как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 15 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртНК Магнит», рассчитанная на проведение 100 исследований, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртНК Магнит»

Компонент	Объем, не менее
1. Магнитный сорбент	1,0 мл
2. Сорбирующий раствор	30 мл
3. Промывочный раствор 2	30 мл
4. Элюирующий раствор	15 мл
5. ВКО*	1,0 мл

* ВКО комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– ламинарный или ПЦР-бокс;
– твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
– микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
– магнитный штатив (при его использовании);
– вортекс;
– набор дозаторов переменного объема;
– одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
– одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5 – 2,0 мл;
– штативы для пробирок и наконечников;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от -24 °С до -16 °С;
– отдельный халат и одноразовые перчатки;
– емкость для сброса наконечников;
– комплект средств для обработки рабочего места;
– автоматизированная станция (при ее использовании).

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи и БАЛ требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА МАГНИТНОМ ШТАТИВЕ

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В подходящей по объему емкости приготовить смесь, содержащую **Сорбирующий раствор, Магнитный сорбент** и **ВКО** (при его использовании), из расчета **300 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл ВКО** на проведение одного выделения. Полученную смесь перемешать.

II. В каждую пробирку объемом 1,5 или 2 мл внести по **320 мкл приготовленной смеси** (по 310 мкл, если ВКО не используется).

III. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Элюирующего раствора.

IV. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

V. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

VI. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30 – 60 сек**. Не затрагивая магнитный сорбент аккуратно удалить надосадочную жидкость.

VII. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

VIII. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

IX. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30 – 60 сек**. Аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость. *На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.*

X. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

XII. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XIII. Перенести пробирки на магнитный штатив **на 30 – 60 сек**. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16°С.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА ЦЕНТРИФУГЕ

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В подходящей по объему емкости приготовить смесь, содержащую **Сорбирующий раствор, Магнитный сорбент** и **ВКО** (при его использовании), из расчета **300 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл ВКО** на проведение одного выделения. Полученную смесь перемешать.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

II. В каждую пробирку объемом 1,5 или 2 мл внести по **320 мкл приготовленной смеси** (по 310 мкл, если ВКО не используется).

III. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Элюирующего раствора.

IV. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

V. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

VI. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

VII. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.

VIII. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

IX. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

X. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин**. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше +4 °С или в течение 1 года при температуре не выше -16 °С.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В **Сорбирующий раствор** внести **Магнитный сорбент** и **ВКО** (если оно используется в тест-системе).

II. Разнести по лункам 1-го планшета **Сорбирующий раствор** с **Магнитным сорбентом** и **ВКО** (если оно используется в тест-системе) по **310 мкл** (или **320 мкл**, если используется **ВКО**).

III. Разнести по лункам 2-го планшета **Промывочный раствор 2** по **300 мкл.**

IV. Разнести по лункам 3-го планшета **Элюирующий раствор** по **100 мкл.**

V. В каждую лунку планшета с **Сорбирующим раствором** и **Магнитным сорбентом** и **ВКО** (если оно используется в тест-системе) добавить по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). *При необходимости в лунку для ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл ОКО (отрицательный контрольный образец, поставляется вместе с тест-системами).*

VI. Установить все планшеты в прибор.

VII. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном перемешивании;

Г) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

VIII. Запустить программу экстракции.

IX. После окончания работы прибора, планшет с Элюирующим раствором извлечь. Элюирующий раствор содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше +4 °С или в течение 1 года при температуре не выше -16 °С.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре +25 – +37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртНК Магнит» транспортируются любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При получении разукомплектовывают в соответствии с указанными температурными режимами хранения. ВКО хранят при температуре не выше -16°С, остальные компоненты «АртНК магнит» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Реагенты «АртНК Магнит» хранится в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25°С.

Срок годности комплекта «АртНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»
Комплектация 2

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит» предназначены для экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, а также из биологических жидкостей (мочи, секрета предстательной железы, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ, спермы), фекалий, кровососущих членистоногих, проб из ОСОЧ, биоптатов и аутоптатов для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртНК Магнит» позволяют проводить очистку РНК/ДНК как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 15 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртНК Магнит» рассчитана на проведение 100 исследований и представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртНК Магнит»

Компонент	Объем, не менее
1. Магнитный сорбент	1 мл
2. Сорбирующий раствор	45 мл
3. Промывочный раствор 1	45 мл
4. Промывочный раствор 2	45 мл
5. Элюирующий раствор	15 мл
6. ВКО*	1,0 мл

* ВКО комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– ламинарный или ПЦР-бокс;
– твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 – 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
– микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 – 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
– магнитный штатив (при его использовании);
– вортекс;
– набор дозаторов переменного объема;
– одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
– одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5 – 2,0 мл;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– штативы для пробирок и наконечников;
– холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от -24 °С до -16 °С;
– отдельный халат и одноразовые перчатки;
– емкость для сброса наконечников;
– комплект средств для обработки рабочего места;
–автоматизированная станция (при ее использовании).

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи, БАЛ, спермы, фекалий, кровососущих членистоногих, биоптатов и аутоптатов требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА МАГНИТНОМ ШТАТИВЕ

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В пробирке объемом 1,5 или 2 мл смешать **Магнитный сорбент** и **ВКО** из расчета:

10*(N+1) мкл Магнитного сорбента + 10*(N+1) ВКО

N – общее количество образцов, включая ОКЭ.

II. В подготовленные пробирки внести по **20 мкл** смеси Магнитного сорбента и ВКО.

III. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). В пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести **100 мкл** Элюирующего раствора.

IV. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Сорбирующего раствора**.

Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

V. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

VI. Перенести пробирки на магнитный штатив на **60 – 180 сек**. Не затрагивая магнитный сорбент аккуратно удалить надосадочную жидкость.

VII. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 1** и перемешать на вортексе.

VIII. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

IX. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30 – 120 сек**. Аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость.

X. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

XI. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XII. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30 – 120 сек**. Аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость. *На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.*

XIII. Добавить в каждую пробирку по **50 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XIV. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

XV. Перемешать на вортексе.

XVI. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XVII. Перенести пробирки на магнитный штатив **на 30 – 60 сек**. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XVIII. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА ЦЕНТРИФУГЕ

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В пробирке объемом 1,5 или 2 мл смешать **Магнитный сорбент** и **ВКО** из расчета:

10*(N+1) мкл Магнитного сорбента + 10*(N+1) ВКО

N – общее количество образцов, включая ОКЭ.

II. В подготовленные пробирки внести по **20 мкл** смеси Магнитного сорбента и ВКО.

III. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). В пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести **100 мкл** Элюирующего раствора.

III. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Сорбирующего раствора**.

IV. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании

V. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

VI. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 1** и перемешать на вортексе.

VII. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

VIII. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

IX. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.

X. Добавить в каждую пробирку по **50 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

XII. Перемешать на вортексе.

XIII. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин.** Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XIV. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. Разнести по лункам 1-го планшета по **10 мкл Магнитного сорбента** и **ВКО.**

II. В каждую лунку 1-го планшета внести по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). В лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести **100 мкл** Элюирующего раствора.

III. В каждую лунку 1-го планшета внести по **450 мкл Сорбирующего раствора.**

IV. Разнести по лункам 2-го планшета **Промывочный раствор 1** по **450 мкл.**

V. Разнести по лункам 3-го планшета **Промывочный раствор 2** по **450 мкл.**

VI. Разнести по лункам 4-го планшета **Элюирующий раствор** по **100 мкл.**

VII. Установить все планшеты в прибор.

VIII. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в **Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте** в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе 1** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Промывочном растворе 2** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

Г) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Д) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

IX. Запустить программу экстракции.

X. После окончания работы прибора планшет с **Элюирующим раствором** извлечь. **Элюирующий раствор** содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

XI. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре 25 – 37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртНК Магнит» транспортируются любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртНК Магнит» хранятся в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности комплекта «АртНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»
Комплектация 3

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит» предназначены для экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, лейкоцитарной фракции цельной крови, а также из биологических жидкостей (мочи, эякулята, секрета простаты, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ) для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртНК Магнит» позволяют проводить очистку РНК/ДНК как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Реагенты «АртНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 15 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртНК Магнит», рассчитанная на проведение 96 исследований, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртНК Магнит»

Компонент	Объем, не менее
1. Магнитный сорбент	1,0 мл
2. Сорбирующий раствор	45 мл
3. Промывочный раствор 1	45 мл
4. Промывочный раствор 2	45 мл
5. Элюирующий раствор	15 мл
6. Глубоколуночные планшеты на 96 лунок	5 шт.
7. Гребенка для магнитных стержней	1 шт.
8. ВКО*	1 мл

* ВКО комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– ламинарный или ПЦР-бокс;
– твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
– микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
– магнитный штатив (при его использовании);
– вортекс;
– набор дозаторов переменного объема;
– одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5 – 2,0 мл;
– штативы для пробирок и наконечников;
– холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от -24 °С до -16 °С;
– отдельный халат и одноразовые перчатки;
– емкость для сброса наконечников;
– комплект средств для обработки рабочего места;
– автоматизированная станция (при ее использовании).

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи и БАЛ требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА МАГНИТНОМ ШТАТИВЕ

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. В случае выпадения осадка прогреть ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В пробирке объемом 1,5 или 2 мл смешать **Магнитный сорбент** и **ВКО** из расчета:

10*(N+1) мкл Магнитного сорбента + 10*(N+1) ВКО

N – общее количество образцов, включая ОКЭ.

II. В подготовленные пробирки внести по **20 мкл** смеси Магнитного сорбента и ВКО.

III. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). В пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести **100 мкл** Элюирующего раствора.

IV. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Сорбирующего раствора**.

Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

V. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

VI. Перенести пробирки на магнитный штатив на **60 – 180 сек**. Не затрагивая магнитный сорбент аккуратно удалить надосадочную жидкость.

VII. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 1** и перемешать на вортексе.

VIII. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

IX. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30 – 120 сек**. Аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость.

X. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

XI. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XII. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30 – 120 сек**. Аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость. *На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.*

XIII. Добавить в каждую пробирку по **50 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XIV. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

XV. Перемешать на вортексе.

XVI. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XVII. Перенести пробирки на магнитный штатив **на 30 – 60 сек**. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XVIII. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА ЦЕНТРИФУГЕ

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В пробирке объемом 1,5 или 2 мл смешать **Магнитный сорбент** и **ВКО** из расчета:

10*(N+1) мкл Магнитного сорбента + 10*(N+1) ВКО

N – общее количество образцов, включая ОКЭ.

II. В подготовленные пробирки внести по **20 мкл** смеси Магнитного сорбента и ВКО.

III. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). В пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести **100 мкл** Элюирующего раствора.

III. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Сорбирующего раствора.**

IV. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании

V. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

VI. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 1** и перемешать на вортексе.

VII. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

VIII. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

IX. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.

X. Добавить в каждую пробирку по **50 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

XII. Перемешать на вортексе.

XIII. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин.** Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XIV. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В пробирке объемом 1,5 или 2 мл смешать **Магнитный сорбент** и **ВКО** из расчета:

10*(N+1) мкл Магнитного сорбента + 10*(N+1) ВКО

N – общее количество образцов, включая ОКЭ.

В каждую лунку 1-го планшета внести по **20 мкл** смеси Магнитного сорбента и ВКО

II. В каждую лунку 1-го планшета внести по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). В лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести **100 мкл** Элюирующего раствора.

III. В каждую лунку 1-го планшета внести по **450 мкл Сорбирующего раствора.**

IV. Разнести по лункам 2-го планшета **Промывочный раствор 1** по **450 мкл.**

V. Разнести по лункам 3-го планшета **Промывочный раствор 2** по **450 мкл.**

VI. Разнести по лункам 4-го планшета **Элюирующий раствор** по **100 мкл.**

VII. Установить все планшеты в прибор.

VIII. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в **Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте** в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе 1** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Промывочном растворе 2** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

Г) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Д) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

IX. Запустить программу экстракции.

X. После окончания работы прибора планшет с **Элюирующим раствором** извлечь. **Элюирующий раствор** содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XI. *Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

**На приборах Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd) допускается использование программы выделения «ALPREP», предустановленной на момент ввода прибора в эксплуатацию.*

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре +25 – +37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртНК Магнит» транспортируются любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртНК магнит» хранятся в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности комплекта «АртНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»
Комплектация 4

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит» предназначены для экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, лейкоцитарной фракции цельной крови, а также из биологических жидкостей (мочи, эякулята, секрета простаты, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ) для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртНК Магнит» в расфасованном формате позволяют проводить очистку РНК/ДНК в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью, простотой, удобством и не требует дополнительных реактивов.

Реагенты «АртНК Магнит» расфасованы в глубоколуночные планшеты на 96 лунок. Комплектация представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртНК Магнит»

Компонент	Количество
1. Сорбирующий раствор с Магнитным сорбентом	0,46 мл x 96
2. Промывочный раствор 1	0,45 мл x 96
3. Промывочный раствор 2	0,45 мл x 96
4. Элюирующий раствор	0,1 мл x 96
5. Гребенка для магнитных стержней	1 шт.
6. Буфер для хранения*	1,0 мл
7. ВКО*	1,0 мл

* ВКО комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– ламинарный или ПЦР-бокс;
– автоматизированная станция;
– набор дозаторов переменного объема;
– одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
– холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от 24 °С до минус 16 °С;
– отдельный халат и одноразовые перчатки;
– емкость для сброса использованного лабораторного пластика;
– комплект средств для обработки рабочего места.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи и БАЛ требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В каждую лунку планшета с **Сорбирующим раствором** и **Магнитным сорбентом** внести по **10 мкл ВКО** (если он используется в тест-системе). Полученную смесь перемешать.

II. В каждую лунку 1-го планшета внести по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). В лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести **100 мкл** Элюирующего раствора.

III. Установить все планшеты в прибор, предварительно сняв защитную пленку.

IV. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в **Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте** в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе 1** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Промывочном растворе 2** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

Г) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Д) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

V. Запустить программу экстракции.

VI.После окончания работы прибора планшет с **Элюирующим раствором** извлечь. **Элюирующий раствор** содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

VI. *Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

**На приборах Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd) допускается использование программы выделения «ALPREP», предустановленной на момент ввода прибора в эксплуатацию.*

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре +25 – +37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртНК Магнит» транспортируются любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртНК Магнит» хранятся в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25°С.

Срок годности комплекта «АртНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»
Комплектация 5

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит» предназначены для экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, лейкоцитарной фракции цельной крови, а также из биологических жидкостей (мочи, эякулята, секрета простаты, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ) для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртНК Магнит» позволяют проводить очистку РНК/ДНК как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Реагенты «АртНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 15 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртНК Магнит», рассчитанная на проведение 96 выделений, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртНК Магнит»

Компонент	Объем, не менее
1. Магнитный сорбент	1,0 мл
2. Сорбирующий раствор	30 мл
3. Промывочный раствор 2	30 мл
4. Элюирующий раствор	15 мл
5. Глубоколуночные планшеты на 96 лунок	4 шт.
6. Гребенка для магнитных стержней	1 шт.
7. Буфер для хранения*	1,0 мл
8. ВКО*	1,0 мл

* комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– ламинарный или ПЦР-бокс;
– твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
– микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
– магнитный штатив (при его использовании);
– вортекс;
– набор дозаторов переменного объема;
– одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5 – 2,0 мл;
– штативы для пробирок и наконечников;
– холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от -24 °С до -16 °С;
– отдельный халат и одноразовые перчатки;
– емкость для сброса наконечников;
– комплект средств для обработки рабочего места;
– автоматизированная станция (при ее использовании).

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи и БАЛ требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА МАГНИТНОМ ШТАТИВЕ

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В подходящей по объему емкости приготовить смесь, содержащую **Сорбирующий раствор, Магнитный сорбент и ВКО** (при его использовании), из расчета **300 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл ВКО** на проведение одного выделения. Полученную смесь перемешать.

II. В каждую пробирку объемом 1,5 или 2 мл внести по **320 мкл приготовленной смеси** (по 310 мкл, если ВКО не используется).

III. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Элюирующего раствора.

IV. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

V. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

VI. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30 – 60 сек**. Не затрагивая магнитный сорбент аккуратно удалить надосадочную жидкость.

VII. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

VIII. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

IX. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30 – 60 сек**. Аккуратно, не затрагивая магнитный сорбент, удалить надосадочную жидкость. *На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.*

X. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

XII. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XIII. Перенести пробирки на магнитный штатив **на 30 – 60 сек**. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16°С.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА ЦЕНТРИФУГЕ

Установить температуру на термостате 65 °С.

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В подходящей по объему емкости приготовить смесь, содержащую **Сорбирующий раствор, Магнитный сорбент** и **ВКО** (при его использовании), из расчета **300 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл ВКО** на проведение одного выделения. Полученную смесь перемешать.

II. В каждую пробирку объемом 1,5 или 2 мл внести по **320 мкл приготовленной смеси** (по 310 мкл, если ВКО не используется).

III. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Элюирующего раствора.

IV. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

V. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

VI. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

VII. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.

VIII. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

IX. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

X. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин**. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше +4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В **Сорбирующий раствор** внести **Магнитный сорбент** и **ВКО** (если он используется в тест-системе).

II. Разнести по лункам 1-го планшета **Сорбирующий раствор** с **Магнитным сорбентом** и **ВКО** (если он используется в тест-системе) по **320 мкл** (или **310 мкл**, если **ВКО** не используется).

III. Разнести по лункам 2-го планшета **Промывочный раствор 2** по **300 мкл.**

IV. Разнести по лункам 3-го планшета **Элюирующий раствор** по **100 мкл.**

V. В каждую лунку планшета с **Сорбирующим раствором** и **Магнитным сорбентом** и **ВКО** (если оно используется в тест-системе) добавить по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). *При необходимости в лунку для ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл ОКО (отрицательный контрольный образец, поставляется вместе с тест-системами).*

VI. Установить все планшеты в прибор.

VII. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном перемешивании;

Г) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

VIII. Запустить программу экстракции.

IX. После окончания работы прибора, планшет с Элюирующим раствором извлечь. Элюирующий раствор содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше +4 °С или в течение 1 года при температуре не выше -16 °С.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Реагенты «АртНК магнит» транспортируют при температуре до +25 °С на протяжении месяца или при температуре +25 – +37 °С (до 5 суток) любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

При получении разукомплектовывают в соответствии с указанными температурными режимами хранения. ВКО хранят при температуре не выше -16°С, остальные компоненты «АртНК магнит» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Реагенты «АртНК Магнит» хранятся в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности комплекта «АртНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»
Комплектация 6

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит» предназначены для экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, лейкоцитарной фракции цельной крови, а также из биологических жидкостей (мочи, эякулята, секрета простаты, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ) для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртНК Магнит» в расфасованном формате позволяют проводить очистку РНК/ДНК в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью, простотой, удобством и не требует дополнительных реактивов.

Реагенты «АртНК Магнит» расфасованы в глубоколуночные планшеты на 96 лунок. Комплектация представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртНК Магнит»

Компонент	Количество
1. Сорбирующий раствор с Магнитным сорбентом	0,3 мл х 96
2. Промывочный раствор 2	0,3 мл х 96
3. Элюирующий раствор	0,1 мл х 96
4. Гребенка для магнитных стержней	1 шт.
5. ВКО*	1,0 мл

* ВКО комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– ламинарный или ПЦР-бокс;
– автоматизированная станция;
– набор дозаторов переменного объема;
– одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
– холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от 24 °С до минус 16 °С;
– отдельный халат и одноразовые перчатки;
– емкость для сброса использованного лабораторного пластика;
– комплект средств для обработки рабочего места.

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи и БАЛ требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В каждую лунку планшета с **Сорбирующим раствором** и **Магнитным сорбентом** внести по **10 мкл ВКО** (если он используется в тест-системе). Полученную смесь перемешать.

II. В каждую лунку 1-го планшета внести по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). В лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести **100 мкл** Элюирующего раствора.

III. Установить все планшеты в прибор, предварительно сняв защитную пленку.

IV. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в **Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте** в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе 2** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Г) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

V. Запустить программу экстракции.

VI.После окончания работы прибора планшет с **Элюирующим раствором** извлечь. **Элюирующий раствор** содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

VI. *Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

**На приборах Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd) допускается использование программы выделения «ALPREP», предустановленной на момент ввода прибора в эксплуатацию.*

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре +25 – +37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртНК Магнит» транспортируются любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртНК Магнит» хранятся в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25°С.

Срок годности комплекта «АртНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»
Комплектация 7

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплектация 7 реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит» предназначена для препаративной экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, а также из биологических жидкостей (мочи, секрета предстательной железы, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ, спермы), фекалий, кровососущих членистоногих, проб из ОСОЧ, биоптатов и аутоптатов для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртНК Магнит» позволяют проводить очистку РНК/ДНК как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 25 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртНК Магнит», рассчитанная на проведение 100 исследований, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртНК Магнит»

Компонент	Количество
1. Концентрирующий раствор	100 мл
2. Лизирующий раствор	30 мл
3. Магнитный сорбент	1,0 мл
4. Сорбирующий раствор	45 мл
5. Промывочный раствор 1	45 мл
6. Промывочный раствор 2	45 мл
7. Элюирующий раствор	15 мл
8. ВКО*	1,0 мл
9. Буфер для хранения*	1,0 мл

* ВКО и буфер для хранения комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– ламинарный или ПЦР-бокс;
– твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
– микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
– магнитный штатив (при его использовании);

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– вортекс;
– набор дозаторов переменного объема;
– одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
– одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5 – 2,0 мл;
– штативы для пробирок и наконечников;
– холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от -24 °С до -16 °С;
– отдельный халат и одноразовые перчатки;
– емкость для сброса наконечников;
– комплект средств для обработки рабочего места;
– автоматизированная станция (при ее использовании).

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи, БАЛ, спермы, фекалий, кровососущих членистоногих, биоптатов и аутоптатов требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА МАГНИТНОМ ШТАТИВЕ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Лизирующий раствор*** *и/или,* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В каждую пробирку объемом 2 мл внести по **100 – 1 000 мкл Концентрирующего раствора** и по **10 мкл ВКО** (при его использовании). *Объем* ***Концентрирующего раствора*** *должен быть равен объему образца.*

II. Добавить в каждую пробирку по **100 – 1 000 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 – 1 000 мкл Элюирующего раствора.

III. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при комнатной температуре без перемешивания.

IV. Центрифугировать в течение **3 мин** при **2 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

V. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Лизирующего раствора**, перемешать на вортексе.

VI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

VII. Убедиться, что осадок растворился. Если осадок растворился не полностью, то повторить **п.VI.**

VIII. В каждую пробирку внести по **10 мкл Магнитного сорбента** и по **450 мкл Сорбирующего раствора**.

IX. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

X. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XI. Перенести пробирки на магнитный штатив на **60 – 180 сек**. Не затрагивая магнитный сорбент аккуратно удалить надосадочную жидкость.

XII. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 1** и перемешать на вортексе.

XIII. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XIV. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30 – 120 сек**. Аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость.

XV. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

XVI. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XVII. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30– 120 сек**. Аккуратно, не затрагивая магнитный сорбент, удалить надосадочную жидкость. *На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.*

XVIII. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XIX. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

XX. Перемешать на вортексе.

XXI. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XXII. Перенести пробирки на магнитный штатив **на 30 – 60 сек**. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XXIII. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

XXIV. *При длительном хранении образцов рекомендуется добавлять по* ***10 мкл Буфера для хранения.***

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА ЦЕНТРИФУГЕ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Лизирующий раствор*** *и/или,* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В каждую пробирку объемом 2 мл внести по **100 – 1 000 мкл Концентрирующего раствора** и по **10 мкл ВКО** (при его использовании). *Объем* ***Концентрирующего раствора*** *должен быть равен объему образца.*

II. Добавить в каждую пробирку по 100 – 1 000 мкл образца (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 – 1 000 мкл Элюирующего раствора.

III. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при комнатной температуре без перемешивания.

IV. Центрифугировать в течение **3 мин** при **2 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

V. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Лизирующего раствора**, перемешать на вортексе.

VI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

VII. Убедиться, что осадок растворился. Если осадок растворился не полностью, то повторить **п.VI**.

VIII. В каждую пробирку внести по **10 мкл Магнитного сорбента** и по **450 мкл Сорбирующего раствора**.

IX. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

X. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

XI. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 1** и перемешать на вортексе.

XII. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

XIII. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

XIV. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.

XV. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XVI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

XVII. Перемешать на вортексе.

XVIII. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин.** Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XIX. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

XX. *При длительном хранении образцов рекомендуется добавлять по* ***10 мкл Буфера для хранения.***

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Лизирующий раствор*** *и/или,* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В каждую пробирку объемом 2 мл внести по **100 – 1 000 мкл Концентрирующего раствора** и по **10 мкл ВКО** (при его использовании). *Объем* ***Концентрирующего раствора*** *должен быть равен объему образца.*

II. Добавить в каждую пробирку по **100 – 1 000 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 – 1 000 мкл Элюирующего раствора.

III. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при комнатной

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

температуре без перемешивания.

IV. Центрифугировать в течение **3 мин** при **2 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

V. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Лизирующего раствора**, перемешать на вортексе.

VI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

VII. Убедиться, что осадок растворился. Если осадок растворился не полностью, то повторить **п.VI.**

VIII. В **Сорбирующий раствор** внести **Магнитный сорбент**.

IX. Разнести по лункам 1-го планшета **Сорбирующий раствор** с **Магнитным сорбентом** по **460 мкл.**

X. Разнести по лункам 2-го планшета **Промывочный раствор 1** по **450 мкл.**

XI. Разнести по лункам 3-го планшета **Промывочный раствор 2** по **450 мкл.**

XII. Разнести по лункам 4-го планшета **Элюирующий раствор** по **100 мкл.**

XIII. В каждую лунку 1-го планшета внести образцы, подготовленные к выделению на этапах **I – VII.**

XIV. Установить все планшеты в прибор.

XV. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в **Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте** в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе 1** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Промывочном растворе 2** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

Г) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Д) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

XVI. Запустить программу экстракции.

XVII. После окончания работы прибора планшет с **Элюирующим раствором** извлечь. **Элюирующий раствор** содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XVIII. *Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

XIX. *При длительном хранении образцов рекомендуется добавлять по* ***10 мкл Буфера для хранения.***

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре 25 – 37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртНК Магнит» транспортируются любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртНК Магнит» хранятся в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25°С. Срок годности комплекта «АртНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»
Комплектация 8

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплектация 8 реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит» предназначена для препаративной экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, а также из биологических жидкостей (мочи, секрета предстательной железы, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ, спермы), фекалий, кровососущих членистоногих, проб из ОСОЧ, биоптатов и аутоптатов для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртНК Магнит» позволяют проводить очистку РНК/ДНК как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 25 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртНК Магнит», рассчитанная на проведение 96 исследований, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртНК Магнит»

Комплект для выделения (часть 1 из 2)	
Компонент	Количество
1. Концентрирующий раствор	100 мл
2. Лизирующий раствор	30 мл
3. Магнитный сорбент	1,0 мл
4. Сорбирующий раствор	45 мл
5. Промывочный раствор 1	45 мл
6. Промывочный раствор 2	45 мл
7. Элюирующий раствор	15 мл
8. ВКО*	1,0 мл
9. Буфер для хранения*	1,0 мл
Комплект пластика (часть 2 из 2)	
Компонент	Количество
1. Планшеты на 96 лунок	5 шт
2. Гребенка для магнитных стержней	1 шт

* ВКО и буфер для хранения комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

– ламинарный или ПЦР-бокс;
– твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл с возможностью термостатирования при 65 °С;
– микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
– магнитный штатив (при его использовании);
– вортекс;
– набор дозаторов переменного объема;
– одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
– одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5 – 2,0 мл;
– штативы для пробирок и наконечников;
– холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от -24 °С до -16 °С;
– отдельный халат и одноразовые перчатки;
– емкость для сброса наконечников;
– комплект средств для обработки рабочего места;
– автоматизированная станция (при ее использовании).

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи, БАЛ, спермы, фекалий, кровососущих членистоногих, биоптатов и аутоптатов требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА МАГНИТНОМ ШТАТИВЕ

*0. В случае выпадения осадка прогреть **Лизирующий раствор** и/или, **Сорбирующий раствор** и/или **Промывочный раствор 1** при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В каждую пробирку объемом 2 мл внести по **100 – 1 000 мкл Концентрирующего раствора** и по **10 мкл ВКО** (при его использовании). *Объем **Концентрирующего раствора** должен быть равен объему образца.*

II. Добавить в каждую пробирку по **100 – 1 000 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 – 1 000 мкл Элюирующего раствора.

III. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при комнатной температуре без перемешивания.

IV. Центрифугировать в течение **3 мин** при **2 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

V. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Лизирующего раствора**, перемешать на вортексе.

VI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

VII. Убедиться, что осадок растворился. Если осадок растворился не полностью, то повторить **п.VI.**

VIII. В каждую пробирку внести по **10 мкл Магнитного сорбента** и по **450 мкл Сорбирующего раствора**.

IX. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

X. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XI. Перенести пробирки на магнитный штатив на **60 – 180 сек**. Не затрагивая магнитный сорбент аккуратно удалить надосадочную жидкость.

XII. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 1** и перемешать на вортексе.

XIII. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XIV. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30 – 120 сек**. Аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

XV. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

XVI. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XVII. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30– 120 сек**. Аккуратно, не затрагивая магнитный сорбент, удалить надосадочную жидкость. *На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.*

XVIII. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XIX. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

XX. Перемешать на вортексе.

XXI. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

XXII. Перенести пробирки на магнитный штатив **на 30 – 60 сек**. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XXIII. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

XXIV. *При длительном хранении образцов рекомендуется добавлять по* ***10 мкл Буфера для хранения.***

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА ЦЕНТРИФУГЕ

0. *В случае выпадения осадка прогреть* ***Лизирующий раствор*** *и/или,* ***Сорбирующий раствор*** *и/или* ***Промывочный раствор 1*** *при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В каждую пробирку объемом 2 мл внести по **100 – 1 000 мкл Концентрирующего раствора** и по **10 мкл ВКО** (при его использовании). *Объем* ***Концентрирующего раствора*** *должен быть равен объему образца.*

II. Добавить в каждую пробирку по 100 – 1 000 мкл образца (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 – 1 000 мкл Элюирующего раствора.

III. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при комнатной температуре без перемешивания.

IV. Центрифугировать в течение **3 мин** при **2 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

V. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Лизирующего раствора**, перемешать на вортексе.

VI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

VII. Убедиться, что осадок растворился. Если осадок растворился не полностью, то повторить **п.VI**.

VIII. В каждую пробирку внести по **10 мкл Магнитного сорбента** и по **450 мкл Сорбирующего раствора**.

IX. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

X. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

XI. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 1** и перемешать на вортексе.

XII. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

XIII. Добавить в каждую пробирку по **450 мкл Промывочного раствора 2** и перемешать на вортексе.

XIV. Осадить магнитный сорбент в течение **60 сек** при **12 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Промывочного раствора 2 могут вызвать ингибирование ПЦР.

XV. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Элюирующего раствора**, перемешать на вортексе.

XVI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

XVII. Перемешать на вортексе.

XVIII. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **12 000 об/мин.** Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

XIX. *Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки. Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

XX. *При длительном хранении образцов рекомендуется добавлять по* ***10 мкл Буфера для хранения.***

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

*0. В случае выпадения осадка прогреть **Лизирующий раствор** и/или, **Сорбирующий раствор** и/или **Промывочный раствор 1** при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В каждую пробирку объемом 2 мл внести по **100 – 1 000 мкл Концентрирующего раствора** и по **10 мкл ВКО** (при его использовании). *Объем **Концентрирующего раствора** должен быть равен объему образца.*

II. Добавить в каждую пробирку по **100 – 1 000 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 – 1 000 мкл Элюирующего раствора.

III. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при комнатной температуре без перемешивания.

IV. Центрифугировать в течение **3 мин** при **2 000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

V. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Лизирующего раствора**, перемешать на вортексе.

VI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1 – 3 раза) перемешивании.

VII. Убедиться, что осадок растворился. Если осадок растворился не полностью, то повторить **п.VI**.

VIII. В **Сорбирующий раствор** внести **Магнитный сорбент**.

IX. Разнести по лункам 1-го планшета **Сорбирующий раствор** с **Магнитным сорбентом** по **460 мкл.**

X. Разнести по лункам 2-го планшета **Промывочный раствор 1** по **450 мкл.**

XI. Разнести по лункам 3-го планшета **Промывочный раствор 2** по **450 мкл.**

XII. Разнести по лункам 4-го планшета **Элюирующий раствор** по **100 мкл.**

XIII. В каждую лунку 1-го планшета внести образцы, подготовленные к выделению на этапах I – VII.

XIV. Установить все планшеты в прибор.

XV. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в **Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте** в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе 1** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Промывочном растворе 2** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

Г) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Д) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

XVI. Запустить программу экстракции.

XVII. После окончания работы прибора планшет с **Элюирующим раствором** извлечь. **Элюирующий раствор** содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

***XVIII.** Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

XIX.** При длительном хранении образцов рекомендуется добавлять по **10 мкл Буфера для хранения.

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре 25 – 37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртНК Магнит» транспортируются любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

При получении разукомплектовывают в соответствии с указанными температурными режимами хранения. ВКО хранят при температуре не выше -16°С, остальные компоненты «АртНК магнит» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности комплекта «АртНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»
Комплектация 9

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплектация 9 реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит» предназначена для препаративной экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, а также из биологических жидкостей (мочи, секрета предстательной железы, плазмы, сыворотки, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ, спермы), фекалий, кровососущих членистоногих, проб из ОСОЧ, биоптатов и аутоптатов для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртНК Магнит» позволяют проводить очистку РНК/ДНК в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd (Auto-Pure 96), Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. (Nexor 96) и др.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 25 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртНК Магнит», рассчитанная на проведение 96 исследований, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртНК Магнит»

Компонент	Количество
1. Концентрирующий раствор	100 мл
2. Лизирующий раствор	30 мл
3. Сорбирующий раствор с Магнитным сорбентом	0,45 мл х 96
4. Промывочный раствор 1	0,45 мл х 96
5. Промывочный раствор 2	0,45 мл х 96
6. Элюирующий раствор	0,1 мл х 96
7. Гребенка для магнитных стержней	1 шт.
8. ВКО*	1 мл
9. Буфер для хранения*	1 мл
10. Планшеты на 96 лунок	5 шт.

* ВКО и буфер для хранения комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный или ПЦР-бокс;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
- вортекс;
- набор дозаторов переменного объема;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5–2,0 мл;
- штативы для пробирок и наконечников;
- холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от минус 24 °С до минус 16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников;
- комплект средств для обработки рабочего места;
- автоматизированная станция.

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи, БАЛ, спермы, фекалий, кровососущих членистоногих, биоптатов и аутоптатов требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

*0. В случае выпадения осадка прогреть **Лизирующий раствор**, и/или планшет с **Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом** и/или планшет с **Промывочным раствором 1** при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.*

I. В каждую пробирку объемом 2 мл внести по **100 – 1 000 мкл Концентрирующего раствора** и по **10 мкл ВКО** (при его использовании). *Объем **Концентрирующего раствора** должен быть равен объему **образца**.*

II. Добавить в каждую пробирку по **100 – 1 000 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала).

При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), 100 мкл ОКО (отрицательный контрольный образец, поставляется вместе с тест-системами).

III. Содержимое перемешать на вортексе и инкубировать в течение **5 мин** при комнатной температуре без перемешивания.

IV. Центрифугировать в течение **3 мин** при 4 **000 об/мин**, удалить надосадочную жидкость.

V. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Лизирующего раствора**, перемешать на вортексе.

VI. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (1–3 раза) перемешивании.

VII. Убедиться, что осадок растворился. Если осадок растворился не полностью, то повторить **п.VI.**

VIII. В каждую лунку планшета с **Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом** внести весь раствор из **п.VII.**

IX. Установить все планшеты в прибор.

X. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образца в **Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте** в течение **5 мин** при температуре **65°С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе 1** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Промывочном растворе 2** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

Г) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Д) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

XI. Запустить программу экстракции.

XII. После окончания работы прибора планшет с **Элюирующим раствором** извлечь. **Элюирующий раствор** содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

***XIII.** Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

XIV.** При длительном хранении образцов рекомендуется добавлять по **10 мкл Буфера для хранения.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре 25 – 37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртНК Магнит» транспортируют любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртНК Магнит» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности комплекта «АртНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит»
Комплектация 10

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплектация 10 реагентов для выделения РНК/ДНК «АртНК Магнит» предназначена для экстракции суммарной РНК/ДНК из клинического материала: мазков, соскобов и отделяемого слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов, а также из биологических жидкостей (мочи, слюны, отделяемого конъюнктивы, ликвора, плевральной, синовиальной и амниотической жидкостей, БАЛ), фекалий, кровососущих членистоногих, проб из ОСОЧ, биоптатов и аутоптатов для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА

Реагенты «АртНК Магнит» являются высокочувствительным набором, позволяющим одинаково эффективно выделять как РНК, так и ДНК из клинического материала. Лимит чувствительности составляет 5 геном-эквивалентов на выделение.

Реагенты «АртНК Магнит» позволяют проводить очистку РНК/ДНК в автоматическом режиме с использованием любых открытых роботизированных станций (производства Beckman Coulter Inc., Eppendorf International, Thermo Fisher Scientific, Hamilton, Tecan, Aurora Biomed Inc., BioTeke Corporation (Wuxi) Co., Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd, Yantai Addcare BioTech Co., Ltd. и др.

Метод очистки РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» отличается высокой скоростью (время выделения 1 образца – не более 15 мин), простотой и удобством и не требует дополнительных реактивов.

Комплектация реагентов «АртНК Магнит», рассчитанная на проведение 96 исследований, представлена в таблице 1.

Таблица 1. Комплектация реагентов «АртНК Магнит»

Компонент	Количество
1. Сорбирующий раствор с Магнитным сорбентом	0,3 мл х 24
2. Промывочный раствор 1	0,3 мл х 24
3. Промывочный раствор 2	0,3 мл х 24
4. Элюирующий раствор	0,1 мл х 24
5. Гребенка для магнитных стержней	3 шт.
6. ВКО*	1 мл
7. Буфер для хранения*	1 мл
8. Планшеты на 96 лунок	1 шт.

* ВКО и буфер для хранения комплектуется по согласованию с пользователем

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Метод выделения суммарной РНК/ДНК с использованием реагентов «АртНК Магнит» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевой буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией в режиме реального времени.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с реагентами «АртНК Магнит» необходимо соблюдать текущие ТНПА в области лабораторной клинической ПЦР-диагностики.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный или ПЦР-бокс;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
- вортекс;
- набор дозаторов переменного объема;
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5–2,0 мл;
- штативы для пробирок и наконечников;

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от минус 24 °С до минус 16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников;
- комплект средств для обработки рабочего места;
- автоматизированная станция.

При работе с РНК необходимо использовать расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ

Взятие, транспортирование и хранение материала для исследования осуществляется в соответствии с существующими ТНПА, методическими рекомендациями и инструкциями.

Образцы мочи, БАЛ, фекалий, кровососущих членистоногих, биоптатов и аутоптатов требуют предварительной обработки в соответствии с установленными методическими рекомендациями.

Все остальные образцы непосредственно перед выделением РНК/ДНК тщательно гомогенизируют на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убирают кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

ВЫДЕЛЕНИЕ РНК/ДНК НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

0. *В случае выпадения осадка прогреть планшет при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов. До прогревания нельзя снимать защитную пленку с планшета.*

I. *В каждую лунку планшета с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом внести по* ***10 мкл ВКО*** *(если он используется в тест-системе).*

II. В каждую лунку планшета с **Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом** добавить по **100 мкл образца** (см. подготовка исследуемого материала). *При необходимости в лунку для ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл ОКО (отрицательный контрольный образец, поставляется вместе с тест-системами).*

III. Установить все планшет в прибор.

IV. Запрограммировать прибор*:

А) Инкубация образца в Сорбирующем растворе и Магнитном сорбенте течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образца в **Промывочном растворе 1** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Промывочном растворе 2** в течение **2 мин** без термостатирования при постоянном перемешивании;

Г) Инкубация образца в **Элюирующем растворе** в течение 5 **мин** при температуре **65 °С** при постоянном перемешивании;

Д) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

V. Запустить программу экстракции.

VI. После окончания работы прибора, планшет с Элюирующим раствором извлечь. Элюирующий раствор содержит очищенные РНК и ДНК, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

VII. *Допускается хранение образцов в течение суток при температуре не выше 4 °С или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °С.*

VIII. *При длительном хранении образцов рекомендуется добавлять по* ***10 мкл Буфера для хранения.***

**На приборах Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Insrtuments Co., Ltd) допускается использование программы выделения «ALPREP», предустановленной на момент ввода прибора в эксплуатацию.*

ТРАНСПОРТИРОВКА И ХРАНЕНИЕ

Транспортировка реагентов «АртНК Магнит» осуществляется при температуре +2 – +25 °С на протяжении всего срока годности или при температуре 25 – 37 °С (до 5 суток). Реагенты «АртНК Магнит» транспортируют любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта.

Реагенты «АртНК Магнит» хранят в упаковке изготовителя при температуре +2 – +25 °С.

Срок годности комплекта «АртНК Магнит» – 12 месяцев с даты изготовления.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru