

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200__ г № _____

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ЗАО «БИО-ДНК-Технология»

Д.Ю.Трофимов

_____ 2008 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению комплекта реагентов для выделения ДНК

ПРОБА-РАПИД

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Комплект реагентов предназначен для получения препарата ДНК из биологического материала (слюна, моча, сперма, секрет предстательной железы, ликвор, соскобы эпителиальных клеток с задней стенки глотки, из уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища и др.) для последующего анализа выделенной ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

1.2. Комплект предназначен для применения *in vitro*.

1.3. Комплект рассчитан на выделение ДНК из 100 анализируемых образцов (включая отрицательные контрольные образцы).

2. ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКТА

Состав комплекта (на 100 образцов):

- Реактив «Проба-Рapid», 100 пробирок по 500 мкл.

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

3.1. При работе с комплектом реагентов необходимо строго соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

3.2. Все компоненты комплекта в используемых концентрациях являются нетоксичными.

3.3. Работать с комплектом следует в одноразовых резиновых перчатках без талька.

3.4. При работе с комплектом следует использовать только новые наконечники и пробирки.

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

3.6. Все лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, халаты и пр. должны быть строго стационарными.

3.7. Обработку помещений проводят в соответствии с требованиями СП 1.2.731-99. Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих средств, регламентированных санитарными правилами.

3.8. Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится выделение ДНК, следует обязательно до и после проведения работ облучать бактерицидными лампами в течение 1 часа.

3.9. Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе с комплектом, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

3.10. Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать Методическим указаниям 1.3.1888-04.

При работе с комплектом реагентов ПРОБА-РАПИД требуются следующие оборудование и материалы:

- термостат твердотельный на 98 С (типа «Гном», ЗАО «НПФ ДПК-Технология»);
- центрифуга на 13000 об/мин;
- микроцентрифуга/вортекс;
- пробирки пластиковые объемом 1,5 мл;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом 20-200 мкл, 200-1000 мкл;
- одноразовые наконечники вместимостью 1-200 мкл, 100-1000 мкл;
- стерильные зонды для взятия клинического материала;
- стерильная посуда для сбора клинического материала;
- перчатки одноразовые резиновые;
- физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный.

5. ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Рекомендации по взятию клинического материала в пробирки с реактивом «Проба-Рapid» из комплекта для выделения ДНК:

- по возможности не допускать попадания постороннего материала (кровь, гной, слизь и т.п.) в пробирку с реактивом;
- по возможности не допускать избытка материала в пробирке (при наличии избыточного материала рекомендуется разбавлять образец путём добавления дополнительно 100-200 мкл реактива «Проба-Рapid»).

Подготовка биологического материала к выделению ДНК.

5.1. Соскобы эпителиальных клеток (с задней стенки глотки, из уретры, заднего свода влагалища, цервикального канала и др.) с помощью одноразовых стерильных зондов перенести в пробирку с реактивом «Проба-Рapid» из комплекта для выделения ДНК, перемешать. Зонд извлечь, прижимая его к стенке пробирки и отжимая избыток жидкости. Плотнo закрыть крышку пробирки.

Примечание: перед взятием соскоба из цервикального канала необходимо удалить слизь стерильным ватным тампоном.

5.2. Моча.

Внимание! Не использовать реактив «Проба-Рapid» для выделения ДНК из мочи при проведении ПЦР-амплификации с помощью комплектов формата «FLASH».

Порцию (примерно 50 мл) утренней мочи следует собрать в стерильную посуду и плотно закрыть крышкой.

5.2.1 Выдержать мочу при комнатной температуре (18-25 °C) в течение 1 ч.

5.2.2 Перемешать содержимое пипетированием.

5.2.3 Перенести 1,0 мл материала в пробирку пластиковую объёмом 1,5 мл.

5.2.4 Центрифугировать пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин.

5.2.5 Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция).

5.2.6 Добавить к осадку 500 мкл физиологического раствора стерильного.

5.2.7 Центрифугировать пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин.

5.2.8 Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция).

5.2.9 Добавить к осадку 500 мкл реактива «Проба-Рapid» (содержимое одной пробирки), тщательно перемешать пипетированием. Плотнo закрыть крышку.

5.3. Слюну, ликвор, синовиальную жидкость (примерно 500 мкл) перенести в стерильную посуду и плотно закрыть крышкой.

5.3.1 Перенести 500 мкл материала в пробирку пластиковую объёмом 1,5 мл.

5.3.2 Центрифугировать пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин.

5.3.3 Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция).

5.3.4 Добавить к осадку 500 мкл физиологического раствора стерильного.

5.3.5 Центрифугировать пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин.

5.3.6 Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция).

5.3.7 Добавить к осадку 500 мкл реактива «Проба-Рapid» (содержимое одной пробирки), тщательно перемешать пипетированием. Плотнo закрыть крышку пробирки.

5.4. Сперма, секрет предстательной железы. Перенести 20-30 мкл жидкого материала пипеткой в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл, в которую предварительно внести 500 мкл физиологического раствора стерильного.

5.4.1 Центрифугировать пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин.

5.4.2 Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция).

5.4.3 Добавить к осадку 500 мкл реактива «Проба-Рapid» (содержимое одной пробирки), тщательно перемешать пипетированием. Плотнo закрыть крышку.

Транспортировать пробирки с образцами до начала исследования при температуре 2-8 °C не более 24 часов.

Допускается хранение пробирок с образцами при температуре минус 20 °C не более 2 недель.

6. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Внимание! Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо выполнить пп. 6.1-6.3 для отрицательного контрольного образца (новая пробирка с реактивом «Проба-Рapid» из комплекта реагентов для выделения ДНК).

6.1. Встряхнуть пробирку «Проба-Рapid» с анализируемым образцом на микроцентрифуге/вортeксе в течение 10 сек.

6.2. Термостатировать пробирку при 98 °C в течение 10 мин.

Термостат необходимо предварительно прогреть до 98 °C. Пробирки должны быть плотно закрыты.

Внимание! При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Рекомендуется использовать программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат «Гном» производства ООО «НПО ДНК-Технология»).

6.3. Центрифугировать пробирку при 13000 об/мин в течение 3 мин. В результате центрифугирования может образоваться осадок голубого цвета.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР-амплификации.

Полученный препарат ДНК можно хранить при температуре 2-8 °С не более 7 суток, при температуре минус 20 °С не более 6 месяцев.

Примечание. При ингибировании ПЦР (отсутствуют полосы специфического продукта и внутреннего контрольного образца при проведении электрофореза или отсутствует сигнал флуоресценции специфического продукта и внутреннего контрольного образца) необходимо повторно провести выделение ДНК.

7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ КОМПЛЕКТА

7.1 Срок годности комплекта – 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя.

7.2 Комплект реагентов следует хранить в темном месте при температуре 2-8 °С в течение всего срока годности комплекта.

7.3 Транспортирование комплекта осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре 2-8 °С. Допускается транспортирование и хранение комплекта «Проба-Рapid» при температуре 18-25 °С в течение 2-3 суток.

7.4 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению комплекта.

7.5 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие комплекта требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных техническими условиями.

7.6 Входящие в состав комплекта пробирки с реактивом «Проба-Рapid» рекомендуется передавать в процедурные кабинеты клиник в качестве тары для взятия, хранения и транспортировки биологического материала для ПЦР-анализа.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для выделения ДНК «ПРОБА-РАПИД», следует обращаться в ЗАО «НПФ ДНК-Технология» по адресу:
115478, Москва, Каширское ш., д. 23-5, офис 16

телефон/факс (495) 980-45-55

Директор по науке

ЗАО «НПФ ДНК-Технология»,

кандидат биологических наук



Д.В. Ребриков

«13» ноября 2008 г.