



**Набор реагентов для выделения ДНК из  
эпителиальных клеток соскобов, мазков,  
клеточных намывов слюны и мочи**

**«GM Epi Q»**

**#epiQ-50**

**#epiQ-250**

**Инструкция по применению**

## **1. Назначение**

### **1.1. Полное название**

«Набор реагентов для выделения ДНК из образцов эпителиальных клеток соскобов, мазков, клеточных намывов слюны и мочи GM Epi Q».

### **1.2. Назначение**

Набор реагентов «GM Epi Q» Raissol<sup>™</sup> предназначен для выделения нуклеиновых кислот высокого качества из 50 или 250 образцов эпителиальных клеток соскобов, мазков, клеточных намывов слюны и мочи.

### **1.3. Область применения**

Набор для выделения ДНК «GM Epi Q» может быть использован в научных лабораторных центрах и институтах, исследовательских лабораториях, для выделения нуклеиновых кислот из эпителиальных клеток соскобов, мазков, клеточных намывов слюны и мочи с целью последующих исследований с применением разных техник ПЦР, ферментативной подготовки полногеномных библиотек и секвенирования. Только для научных исследований.

### **1.4. Принцип действия**

Выделение включает полный лизис клеток и последующую адсорбцию нуклеиновых кислот на кремниевой мембране спин-колонки. После чего следует промывка и элюция нуклеиновых кислот.

## 2. Характеристика набора

Компоненты набора являются одноразовыми. Набор реагентов «GM Epi Q» не требует технического обслуживания и калибровки.

### 2.1. Состав набора

Набор материалов и реагентов «GM Epi Q» рассчитан на 50 или 250 выделений.

№	Реагент/вспомогательный материал	Описание	#epiQ-50		#epiQ-250	
			Объем, мл	Кол-во, шт.	Объем, мл	Кол-во, шт.
1	Лизирующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних примесей и включений, без запаха	17,5	1	87,5	1
2	Связывающий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних примесей и включений, с резким запахом	17,5	1	87,5	1
3	Промывочный буфер 1	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних примесей и включений, с резким запахом	30	1	150	1
4	Промывочный буфер 2	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних примесей и включений, с резким запахом	30	1	150	1
5	Элюирующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних примесей и включений, без запаха, pH=8,9	5	1	25	1
6	Протеиназа К	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость без посторонних примесей и включений, без запаха	1	1	5	1
7	Спин-колонки с собирательными пробирками	Собирательная пробирка объемом 2 мл без крышки, сорбционная колонка с кремнеземной мембраной емкостью до 25 мкг ДНК		50		250

### **3. Меры предосторожности при работе с набором**

Работу проводят в соответствии с МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

Потенциальный риск применения набора – класс 2а. Необходимо одновременное обеспечение и соблюдение персоналом правил биологической безопасности и требований к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами исследуемых проб, помещений и оборудования.

#### **3.1. Необходимость обучения персонала**

Для работы с данным набором реагентов необходимо участие специалиста с высшим/средним медицинским или биологическим образованием. Персонал должен иметь навыки работы с биохимическими реактивами и современным лабораторным оборудованием.

#### **3.2. Меры безопасности, позволяющие предохранять оператора**

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными, при должном использовании не оказывают вредного влияния на организм оператора.

При работе с набором следует соблюдать стандартные меры предосторожности для лабораторий:

- пользоваться лабораторными перчатками и надевать лабораторные халаты;
- не принимать пищу, пить или курить в лабораторных помещениях;
- после работы с пробами и реактивами следует тщательно вымыть руки водой с мылом.

Избегать контакта компонентов набора с кожей, глазами, слизистыми оболочками и одеждой. При попадании промыть большим количеством воды в течение нескольких минут. При приеме внутрь немедленно обратиться за медицинской помощью.

Связывающий буфер, промывочный буфер 1 и промывочный буфер 2 содержат легковоспламеняющиеся жидкости. Все работы с легковоспламеняющимися жидкостями должны проводиться с использованием приточно-вытяжной вентиляции, вдали от огня и источников искрообразования, электрооборудование и освещение должно быть взрывобезопасно.

### **4. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором**

#### **4.1. Указания о необходимости использования специального оборудования**

Работу с набором следует проводить в боксе для стерильных работ с ДНК-пробами (например, бокс абактериальной воздушной среды БАВнп-01-«Ламинар-С»-1,8, ЗАО «Ламинарные системы», г. Миасс, Россия), установленном в рабочей зоне 2 (МУ 1.3.2569-09).

#### **4.2. Дозирующие устройства**

Набор автоматических дозаторов переменного объема на 20-200 мкл и 100-1000 мкл.

#### **4.3. Другое используемое оборудование**

- Вортекс (например, Biosan Microspin FV-2400);
- твердотельный термостат с возможностью поддержания температурного режима в диапазоне 25-80°C для пробирок объемом 1,5-2 мл (например, Biosan TDB-120);
- скоростная микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5-2 мл до 13 тыс. об/мин (например, Eppendorf 5418 R);

- штатив для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл;
- штатив для дозаторов переменного объема;
- морозильная камера -20°C;
- холодильник от+2 до +8°C (для хранения образцов).

#### **4.4. Лабораторная посуда**

Емкости для сброса наконечников и пробирок.

#### **4.5. Материалы и реагенты, не входящие в состав набора**

- Микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 или 2 мл;
- одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 1000 мкл;
- одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 200 мкл;
- одноразовые медицинские халаты и одноразовые медицинские перчатки;
- комплект средств для обработки рабочего места.

### **5. Анализируемые пробы**

#### **5.1. Предварительная подготовка биологического материала**

Мазки и соскобы лизируются без пробоподготовки. Для получения клеточных намывов из слюны или мочи необходимо центрифугировать пробирку с биоматериалом объемом 1,5-2 мл при макс. об/мин в течение 2 минут с последующим удалением супернатанта.

#### **5.2. Условия транспортировки и возможного хранения анализируемых проб**

Хранение биоматериала:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от +2 до +8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от -20 °С – в течение месяца.

### **6. Проведение процедуры выделения ДНК**

#### **6.1. Лизис**

1. В пробирки объемом 1,5-2 мл поместить образцы.
2. Добавить 350 мкл лизирующего буфера и 20 мкл Протеиназы К.
3. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
4. Инкубировать в термостате при 55-60°C в течение 10-15 минут, периодически встряхивая.

Примечание: время инкубации может быть увеличено до 30 минут для повышения выхода ДНК.

5. Остудить смесь при комнатной температуре в течение 3-5 минут. Перенести максимально возможный объем полученной смеси в новую 1,5-2 мл пробирку.

#### **6.2. Сорбция и осаждение НК**

1. Добавить к смеси 350 мкл связывающего буфера.
2. Интенсивно перемешать пробирки на вортексе, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
3. Перенести весь объем смеси в спин-колонку.
4. Центрифугировать пробирки в течение 30 секунд при 13 тыс. об/мин. Удалить фильтрат пипеткой из собирательных пробирок.

### 6.3. Промывка НК

1. Добавить в пробирки 600 мкл промывочного буфера 1.
2. Центрифугировать пробирки в течение 30 секунд при 13 тыс. об/мин. Удалить фильтрат из собирательных пробирок.
3. Добавить в пробирки 600 мкл промывочного буфера 2.
4. Центрифугировать пробирки в течение 30 секунд при 13 тыс. об/мин. Удалить фильтрат из собирательных пробирок.
5. Вернуть колонки в собирательные пробирки. Центрифугировать пробирки в течение 1 минуты при макс. об/мин.

### 6.4. Элюция НК

1. Перенести спин-колонки в новые пробирки объемом 1,5-2 мл. Собирательные пробирки утилизировать.
2. Добавить на центр мембраны спин-колонок 50-100 мкл элюирующего буфера. Инкубировать в течении 1-2 минуты.
3. Центрифугировать пробирки в течение 30 секунд при макс. об/мин.
4. Утилизировать спин-колонки.

*Опционально:* для повышения выхода НК фильтрат можно повторно нанести на мембрану колонки и/или использовать нагретый до 60-70°C элюирующий буфер.

### 6.5. Условия хранения выделенных образцов НК

Полученные растворы нуклеиновых кислот могут храниться до 7 дней при температуре от +2°C до +4°C и до двух лет при температуре -20°C.

### 6.6. Показатели выделенных образцов НК

По соотношению показателей поглощения A260/A280 чистота полученного раствора ДНК соответствуют  $\geq 1,7$ .

### 6.7 Возможные трудности при выделении НК

Проблема	Возможная причина	Описание решения
После лизиса и первого центрифугирования супернатант не прошёл через колонку в собирательную пробирку полностью или частично.	Наличие носителя биоматериала (целлюлоза, синтетический материал и т.п.) в супернатанте.	Убедиться в отсутствии твердых компонентов в образце после лизиса при переносе на спин-колонку.
Низкая концентрация выделенной ДНК.	Малое количество биоматериала; несоблюдение температурного режима во время лизиса.	Увеличить количество биоматериала; соблюдать рекомендации производителя относительно объемов компонентов и температурных режимов.

## **7. Условия хранения, транспортировки и эксплуатации**

### **7.1. Условия хранения**

**Буферы** набора «GM Epi Q» могут храниться при температуре от +4°C до +25°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. В случае наличия осадка при минимальных температурах хранения, растворы следует нагреть до комнатной температуры.

Фермент **Протеиназа К** необходимо хранить при -20°C, срок хранения составляет 12 месяцев.

### **7.2. Условия транспортировки**

Транспортировка **буферов** набора «GM Epi Q» может производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от +4°C до +25°C.

Транспортировка фермента **Протеиназа К** может производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре -20°C. Допускается кратковременное повышение температуры транспортировки (хранения) фермента **Протеиназа К** от +4°C до +25°C **не более 5 суток**.

### **7.3. Информация по безопасной утилизации**

Использованные пробирки, наконечники, перчатки, ветошь для обработки поверхностей в ШББ собирают в пластиковые закрывающиеся емкости, выносят в специально предназначенное вспомогательное помещение (МУ 1.3.2569-09) с целью последующей инактивации согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10. Наборы с истекшим сроком годности, а также в случае повреждения упаковки, утилизируют по классу Г, как токсикологически опасные отходы 1-4 классов опасности (СанПиН 2.1.7.2790-10).

### **7.4. Гарантийные обязательства производителя**

Предприятие-производитель гарантирует соответствие функциональных характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение установленного срока годности (12 месяцев) при соблюдении всех условий транспортировки, хранения и применения.

Рекламации на качество набора реагентов направлять на предприятие-изготовитель ООО «Сесана» (107014, г. Москва, ул. Короленко, 8, email: sales@sesana.ru).

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и лабораторных работников при применении набора реагентов, рекомендуется направить сообщение на предприятие-изготовитель ООО «Сесана» по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулируемую организацию в соответствии с действующим законодательством.