



**Набор реагентов для полуавтоматического  
выделения ДНК из цельной крови**

**«Blood Auto Pure»**

**#bloodA-96**

**#bloodA-192**

**Инструкция по применению**

## **1. Назначение**

### **1.1. Полное название**

Набор реагентов для полуавтоматического выделения ДНК из цельной крови «Blood Auto Pure».

### **1.2. Назначение**

Набор реагентов «Blood Auto Pure» Raissol™ предназначен для полуавтоматического выделения ДНК из цельной крови методом сорбции на магнитных частицах с использованием автоматической станции Allsheng «Auto-Pure 96/48/24».

### **1.3. Область применения**

Набор для полуавтоматического выделения ДНК «Blood Auto Pure» может быть использован в научных лабораторных центрах и институтах, исследовательских лабораториях для выделения нуклеиновых кислот из цельной крови с целью последующих исследований с применением разных техник ПЦР, ферментативной подготовки геномных библиотек и секвенирования. Только для научных исследований.

### **1.4. Принцип действия**

Выделение включает полный лизис клеток и последующую адсорбцию нуклеиновых кислот на магнитных частицах. После чего следует промывка и элюция нуклеиновых кислот.

## 2. Характеристика набора

Компоненты набора являются одноразовыми. Набор реагентов «Blood Auto Pure» не требует технического обслуживания и калибровки.

### 2.1. Состав набора

Набор реагентов «Blood Auto Pure» рассчитан на 96 и 192 выделения.

№	Реагент/вспомогательный материал	Описание	#bloodA-96		#bloodA-192	
			Объем, мл	Кол-во, шт.	Объем, мл	Кол-во, шт.
1	Лизирующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, без запаха	19,5	1	38,5	1
2	Связывающий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, без запаха	58	1	115,5	1
3	Промывочный буфер 1	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, без запаха	154	1	154	2
4	Промывочный буфер 2	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, с резким запахом	67,5	1	134,5	1
5	Промывочный буфер 3	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, с резким запахом	67,5	1	134,5	1
6	Элюирующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, без запаха, рН = 8,9	10	1	20	1
7	Протеиназа К	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость, без посторонних примесей и включений, без запаха	2,9	1	5,8	1
8	Магнитные частицы	Непрозрачная суспензия черного цвета, с образованием осадка в состоянии покоя	3,9	1	7,7	1

### **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**

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

При работе с набором следует соблюдать обычные 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.

Промывочный буфер 2 и промывочный буфер 3 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**

Подготовку к выделению 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 одно- или многоканальных дозаторов переменного объема на 20-200 мкл и 100-1000 мкл.

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

- Автоматическая станция Allsheng «Auto-Pure 96/48/24»;
- штатив для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл;
- штатив для дозаторов переменного объема;
- магнитный штатив, совместимый с глубоколоночными планшетами;
- морозильная камера -20°C;

- холодильник 2-8°C (для хранения образцов).

#### **4.4. Лабораторная посуда**

Емкости для сброса наконечников и пробирок.

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

- Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 1000 мкл;
- одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 200 мкл;
- планшеты глубоколоночные на 96 лунок с юбкой, с U- или V-образным дном;
- гребенки для глубоколоночных планшетов на 96 лунок;
- ванночки для реагентов;
- микроцентрифужные пробирки объемом 1,5-2 мл;
- одноразовые медицинские халаты и одноразовые медицинские перчатки;
- комплект средств для обработки рабочего места.

*Примечание:* к использованию рекомендуются гребенки и глубоколоночные планшеты производителя Yong Yue Medical Technology (Kunshan) Co., Ltd (артикул гребенки: YMC-96, артикулы планшетов: YDP-96-2.2-SC и YDP-96-2.2-SU-N).

### **5. Анализируемые пробы**

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

Перемешать кровь в пробирке, перевернув ее несколько раз.

#### **5.2. Рекомендуемые условия транспортировки и возможного хранения анализируемых проб**

Хранение образцов цельной крови:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °C – в течение 1 суток;

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

#### **6.1. Установка программы**

1. Перенести файлы .txt «LysBloodA» (программа для лизиса) и «SorBloodA» (программа для сорбции и последующих этапов) на флэш-накопитель в предварительно созданную папку с названием «Items». Программы доступны по QR-коду в Приложении 1 (Рисунок 1).
2. Вставить флэш-накопитель в прибор и зайти во вкладку Настройки.
3. Нажать на вкладку Импорт/Экспорт и выбрать кнопку Импорт.
4. Отметить зеленой галочкой программы «LysBloodA» и «SorBloodA» и нажать на кнопку Импорт.
5. Проверить наличие вышеуказанных программ во вкладке «Вып.Прог.», что будет означать успешную загрузку.

#### **6.2. Подготовка реагентов**

1. Подготовить и подписать 8 глубоколоночных планшетов:  
Планшет 1 – для установки гребенки и сброса;  
Планшет 2 – для этапа лизиса и связывания;  
Планшет 3 – для магнитных частиц;  
Планшет 4 – для промывочного буфера 1;  
Планшет 5 – для промывочного буфера 1;  
Планшет 6 – для промывочного буфера 2;  
Планшет 7 – для промывочного буфера 3;  
Планшет 8 – для элюирующего буфера.

2. В планшет 1 установить гребенку.
3. В планшет 3 добавить по 40 мкл магнитных частиц в каждую лунку.
4. В планшет 4 добавить по 900 мкл промывочного буфера 1 в каждую лунку.
5. В планшет 5 добавить по 700 мкл промывочного буфера 1 в каждую лунку.
6. В планшет 6 добавить по 700 мкл промывочного буфера 2 в каждую лунку.
7. В планшет 7 добавить по 700 мкл промывочного буфера 3 в каждую лунку.
8. В планшет 8 добавить по 100 мкл элюирующего буфера в каждую лунку.

### 6.3. Подготовка к лизису

1. а. При полном запуске планшета на 96 образцов:
  - 1) Перенести весь объем протеиназы К в лизирующий буфер, тщательно перемешать получившуюся смесь.
  - 2) В каждую лунку планшета 2 внести 230 мкл смеси лизирующего буфера с протеиназой К, затем добавить в лунки по 200 мкл цельной крови.

Примечание: Смесь лизирующего буфера и протеиназы К хранится не более суток при температуре от +2°C до +8°C.

- б. При неполном запуске:

В лунки планшета 2 внести 200 мкл лизирующего буфера и 30 мкл протеиназы К, затем добавить в лунки по 200 мкл цельной крови.

### 6.4. Запуск прибора

1. Установить планшеты 1-8 в прибор согласно схеме в Приложении 1 (Рисунок 2), следуя обозначениям на приборе и используя кнопки для поворота платформы.
2. Открыть вкладку «Вып.Прог.», выбрать программу «LysBloodA» и нажать кнопку «Пуск».
3. После завершения программы, извлечь планшет 2 из прибора и внести 600 мкл связывающего буфера в каждую лунку.
4. Установить планшет 2 в прибор, выбрать во вкладке «Вып.Прог.» программу «SorBloodA» и нажать кнопку «Пуск».
5. После окончания программы выделения извлечь планшет 8 из прибора.
6. Установить планшет 8 на магнитный штатив, либо центрифугировать его на максимальной скорости для удаления остаточного количества магнитных частиц.
7. Перенести элюат в новый планшет или пробирки объемом 1,5-2 мл.

### 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 соответствует  $\geq 1,7$ .

**Важно!** Некоторые образцы при высокой концентрации ДНК (более 200 нг/мкл) могут иметь легкий желтовато-красноватый оттенок, при этом показатели A260/A280  $\geq 1,8$ . Такие образцы не ингибируют последующие реакции, такие как ПЦР, ферментативная подготовка полногеномных библиотек и пр.

## 6.7. Возможные трудности при выделении НК

Проблема	Возможная причина	Описание решения
«Грязный» элюат	Остаточное наличие магнитных частиц	Дополнительно центрифугировать элюат для отделения магнитных частиц
Не выделилась ДНК	Планшеты были установлены в прибор неправильно	Подпишите глубоколуночные планшеты перед внесением реагентов, установите планшеты в прибор в соответствии со схемой в Приложении 1 (Рисунок 2)

## 7. Условия хранения, транспортировки и эксплуатации

### 7.1. Условия хранения

**Буферы** набора «**Blood Auto Pure**» 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.

**Магнитные частицы** могут храниться при температуре от +4°C до +25°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. Перед применением суспензию частиц необходимо тщательно взбалтывать до однородного состояния.

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

### 7.2. Условия транспортировки

Транспортировка буферов набора «**Blood Auto Pure**» и **магнитных частиц** 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.

Предприятие-производитель сертифицировано, как отвечающее требованиям ГОСТ ISO 13485-2017 для области применения – проектирование и разработка, производство и поставка наборов реагентов для диагностики *in vitro*.

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.