



**Набор для очистки ДНК после бисульфитной  
конверсии  
«DeSulf Clean»**

**#desulf\_clean-50**

Инструкция по применению

## **1. Назначение**

### **1.1. Полное название**

«Набор для очистки ДНК после бисульфитной конверсии «DeSulf Clean».

### **1.2. Назначение**

Набор реагентов «DeSulf Clean» Raissol™ предназначен для десульфирования и очистки 50 образцов ДНК после бисульфитной конверсии.

### **1.3. Область применения**

Набор для очистки ДНК после бисульфитной конверсии «DeSulf Clean» может быть использован в научных лабораторных центрах и институтах, исследовательских лабораториях, для очистки ДНК после бисульфитной конверсии. Только для научных исследований.

### **1.4. Принцип действия**

Очистка включает в себя сорбцию ДНК на кремниевой мембране спин-колонок с последующим десульфированием, после чего следует промывка и элюция нуклеиновых кислот.

## 2. Характеристика набора

Компоненты набора являются одноразовыми. Набор реагентов «DeSulf Clean» не требует технического обслуживания и калибровки.

### 2.1. Состав набора

Набор материалов и реагентов «DeSulf Clean» рассчитан на 50 образцов.

№	Реагент/вспомогательный материал	Описание	#desulf_clean-50	
			Объем, мл	Кол-во, шт.
1	Связывающий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних примесей и включений, без запаха	22,5	1
2	Десульфирующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних примесей и включений, с резким запахом	10	1
3	Промывочный буфер	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних примесей и включений, с резким запахом	30	1
4	Элюирующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних примесей и включений, без запаха, pH=8,9	1,1	1
5	Спин-колонки	Собирательная пробирка объемом 2 мл без крышки, сорбционная колонка объемом 0,75 мл с кремнеземной мембраной ёмкостью до 6 мкг ДНК		50

### **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, вредного влияния на организм оператора не оказывают при должном использовании.

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.

Десульфидирующий буфер и промывочный буфер 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);
- 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. Требования к используемому биологическому материалу

ДНК после бисульфитной конверсии.

### 5.1. Условия транспортировки и возможного хранения анализируемых проб

ДНК после бисульфитной конверсии можно хранить при +4°C не более 12 ч.

## 6. Проведение десульфирования и очистки ДНК

### 6.1. Сорбция НК

1. В спин-колонок внести 3 объема связывающего буфера по отношению к объему образца.
2. Добавить весь объем образца после бисульфитной конверсии.
3. Перемешать смесь переворачиванием колонок.
4. Центрифугировать колонки в течение 30 секунд при 10-12 тыс. об/мин. Удалить фильтрат из собирательных пробирок.

### 6.2. Десульфирование и промывка НК

1. Добавить в колонки 200 мкл промывочного буфера.
2. Центрифугировать колонки в течение 30 секунд при 10-12 тыс. об/мин. Удалить фильтрат из собирательных пробирок.
3. Добавить в колонки 200 мкл десульфировющего буфера.
4. Инкубировать колонки при комнатной температуре 20 минут.
5. Центрифугировать колонки в течение 30 секунд при 10-12 тыс. об/мин. Удалить фильтрат из собирательных пробирок.
6. Дважды повторить пункты 1-2.
7. Центрифугировать пустые спин-колонок в течение 1 минуты при 10-12 тыс. об/мин.
8. Перенести спин-колонок в новые пробирки объемом 1,5-2 мл. Собирательные пробирки утилизировать.

### 6.3. Элюция НК

1. Добавить на центр мембраны спин-колонок 22 мкл элюирующего буфера. Инкубировать в течение 5 минут при комнатной температуре.
2. Центрифугировать колонки в течение 1 минуты при 10-12 тыс. об/мин.
3. Утилизировать спин-колонок.

Опционально: для повышения выхода НК необходимо повторно нанести фильтрат на мембрану колонок.

#### **6.4. Условия хранения очищенных образцов НК**

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

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

#### **7.1. Условия хранения**

Все реагенты набора «DeSulf Clean» могут храниться при температуре от +4 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.

#### **7.2. Условия транспортировки**

Транспортировка всех реагентов набора «DeSulf Clean» может производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от +4°C до +25°C.

#### **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 регулирующую организацию в соответствии с действующим законодательством.