



**Набор реагентов для проведения
полногеномной амплификации**

«WGA Classic»

#wga_classic-50

#wga_classic-100

Инструкция по применению

1. Назначение

1.1. Полное название

«Набор реагентов для проведения полногеномной амплификации WGA Classic».

1.2. Назначение

Набор реагентов «WGA Classic» Raiççol[™] предназначен для полногеномной амплификации малого количества ДНК или в системе единичных клеток.

1.3. Область применения

Набор реагентов «WGA Classic» может быть использован в научных лабораторных центрах и институтах, исследовательских лабораториях для проведения полногеномной амплификации малого количества ДНК или в системе единичных клеток с целью последующих исследований с применением специфичной или мультилокусной ПЦР, ферментативной подготовки полногеномных библиотек, хромосомного микроматричного анализа и др. Только для научных исследований.

1.4. Принцип действия

Данный метод включает в себя лизис клеток, в результате которого происходит разрушение клеточных структур и денатурация ДНК, с последующей амплификацией с множественным вытеснением цепи. Схема амплификации с множественным вытеснением цепи представлена на рисунке 1.

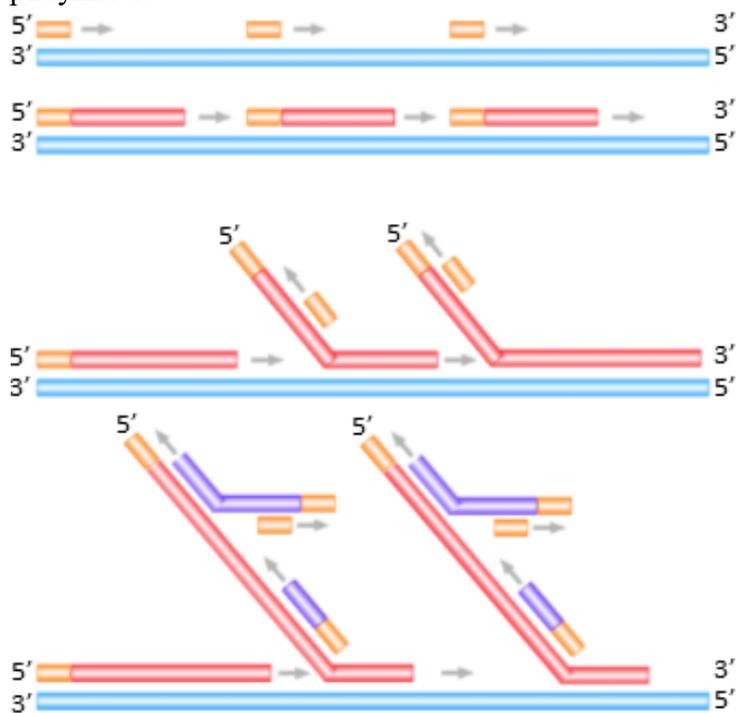


Рисунок 1 Схема амплификации с множественным вытеснением цепи.

Октамеры и декамеры гибридизуются на денатурированной ДНК. Полимераза достраивает комплиментарную цепь до следующего гибридизованного праймера, затем она вытесняет растущую цепь и продолжает достраивание комплиментарной цепи. Вытесненная цепь становится матрицей для гибридизации свободных праймеров, на которой происходит повторная амплификация. В результате образуется большое количество копий ДНК из исходной молекулы.

2. Характеристика набора

Набор реагентов «WGA Classic» является одноразовым, не требует технического обслуживания и калибровки.

2.1. Состав набора

Набор реагентов «WGA Classic» рассчитан на 50 или 100 реакций:

№	Реагент/ вспомогательный материал	Описание	#wga_classic-50		#wga_classic-100	
			Объем, мл	Кол-во, шт.	Объем, мл	Кол-во, шт.
1	Лизирующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, с сероподобным запахом	0,25	1	0,5	1
2	Нейтрализующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, без запаха	0,175	1	0,35	1
3	P-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, без запаха	0,05	1	0,1	1
4	ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, без запаха	1,25	1	1,25	2
5	Полимераза	Прозрачная вязкая бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, без запаха	0,05	1	0,1	1
6	Буфер для разбавления	Прозрачная бесцветная жидкость, без посторонних примесей и включений, без запаха	0,475	1	0,95	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.

Все процедуры должны проводиться в условиях максимальной стерильности и отсутствия контаминации, так как данная система имеет высокий уровень чувствительности. Все операции необходимо проводить в особо чистом изолированном ламинарном боксе. Перед началом процедуры следует провести тщательную деконтаминацию рабочего места. Процедуры должны проводиться в одноразовых средствах индивидуальной защиты.

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.

4. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором

4.1. Указания о необходимости использования специального оборудования

Работу с набором следует проводить в ламинарном 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 0,5-10 мкл, 20-200 мкл.

4.3. Другое используемое оборудование

- штатив для пробирок объемом 0,2 мл;
- штатив для пробирок объемом 1,5-2 мл;
- штатив для дозаторов переменного объема;

- штатив-охладитель для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5-2 мл (например, Диаэм IsoFeeze) или льдогенератор (например, Scotsman AF 10 AS OX);
- амплификатор планшетного типа для пробирок объемом 0,2 мл;
- центрифуга-встряхиватель;
- центрифуга для пробирок в стрипах объемом 0,2 мл.
- морозильная камера -20°C;
- холодильник от +2 до +8°C.

4.4. Лабораторная посуда

Емкости для сброса наконечников и пробирок.

4.5. Материалы и реагенты, не входящие в состав набора

- Пробирки в стрипах объемом 0,2 мл;
- пробирки объемом 1,5-2 мл;
- одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 200 мкл;
- одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 10 мкл;
- одноразовые медицинские халаты;
- одноразовые медицинские перчатки;
- одноразовые медицинские шапочки;
- одноразовые медицинские бахилы;
- одноразовые медицинские маски;
- комплект средств для обработки рабочего места.

5. Анализируемые пробы

5.1. Предварительная подготовка биологического материала

Предварительная пробоподготовка не требуется.

5.2. Рекомендуемые условия транспортировки и возможного хранения анализируемых проб

Используемые пробы необходимо хранить и транспортировать при температуре не выше -20°C.

6. Проведение процедуры полногеномной амплификации

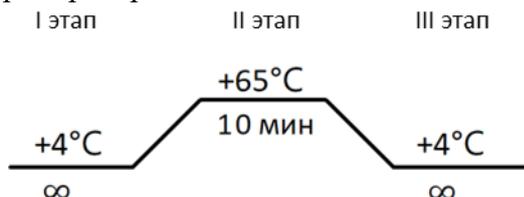
Лизис

1. Подготовить мастер-микс для лизиса на необходимое количество образцов:

Название реагента	Объем вносимого реагента на 1 образец, мкл
Лизирующий буфер	5
P-реагент	1

2. Тщательно перемешать мастер-микс.
3. В пробирки с образцами объемом 0,2 мл аккуратно внести на стенку 6 мкл мастер-микса. **Не вортексировать. Объем образца не должен превышать 5 мкл.**
4. Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

- Поместить пробирки в амплификатор с предварительно установленной программой для лизиса после выхода прибора в рабочее состояние I этапа:



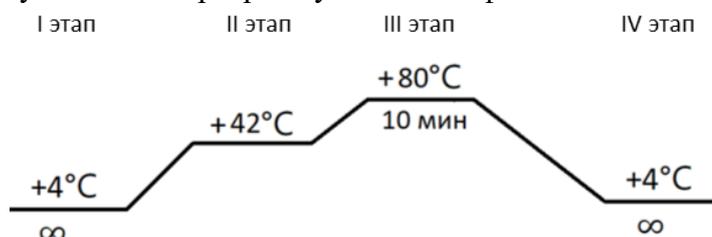
- После установки пробирок в амплификатор необходимо пропустить I этап.

Нейтрализация

- Достать пробирки из амплификатора. Добавить к смеси 3,5 мкл нейтрализующего буфера. **Не вортексировать.**
- Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

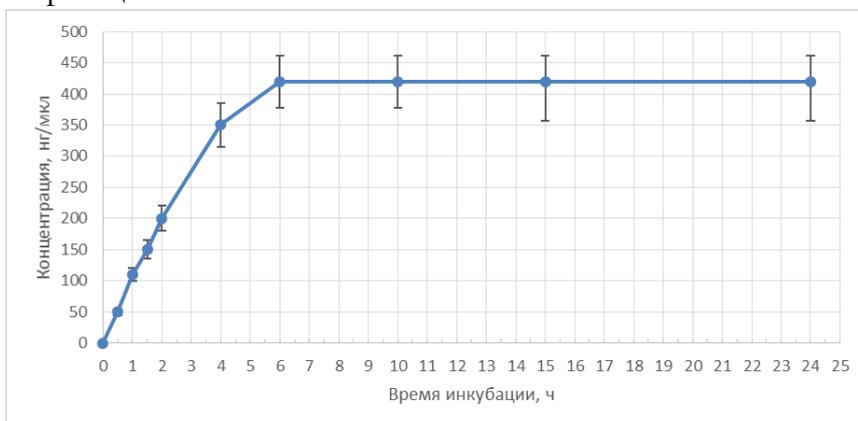
Амплификация

- Предварительно установить программу для амплификации:



Важно: установить температуру крышки амплификатора 50°C.

Длительность II этапа подбирается в зависимости от необходимого количества продукта амплификации:



- Подготовить мастер-микс для амплификации на необходимое количество образцов:

Название реагента	Объем вносимого реагента на 1 образец, мкл
ПЦР-буфер	25
Полимераза	1
Буфер для разбавления	9,5

- Перемешать мастер-микс плавным переворачиванием пробирки, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
- Внести по 34,5 мкл мастер-микса к образцам.
- Сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
- Поместить пробирки в амплификатор с предварительно установленной программой и пропустить I этап.

6.1. Условия хранения полученных продуктов амплификации

Полученные продукты амплификации могут храниться до 7 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

Набор реагентов «WGA Classic» необходимо хранить при -20°C, срок хранения составляет 12 месяцев.

7.2. Условия транспортировки

Транспортировка набора реагентов «WGA Classic» может производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре -20°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.