

Molecision™ Набір для екстракції нуклеїнових кислот

■ ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір для екстракції нуклеїнових кислот призначений для ізолювання нуклеїнових кислот вірусів з матеріалів зразків для тестування *in vitro*.

■ МАТЕРІАЛИ ЗРАЗКІВ

Матеріали зразків, які придатні для специфічного ізолювання, зазначено нижче.

Отримуваний матеріал	Матеріал зразка
Вірусна нуклеїнова кислота	Плазма, сироватка, цільна кров, розчин консервації зразків із орофарингеальних і назофарингеальних мазків
Геномна ДНК	Цільна кров, культивовані клітини, свіжозаморожені тканини
Людська позаклітинна нуклеїнова кислота	Плазма

Свіжозаморожена тканина має бути ретельно подрібнена та перемішана в рідкому азоті.

■ ПРИНЦИП ДІЇ / СТИСЛИЙ ОПИС

Процедура ізолювання нуклеїнових кислот заснована на використанні магнітних частинок із покриттям із силікатного скла та технології підтримки твердої фази¹.

Ця процедура ізолювання складається з таких основних кроків:

1. Нуклеїнові кислоти виділяються в буфер для лізису.
2. Нуклеїнові кислоти прив'язуються до силікатного скляного покриття магнітних частинок шляхом водневого зв'язку й електростатичної адсорбції.
3. Нуклеїнові кислоти відокремлюються методом магнітної сепарації від залишків лізованого зразка.
4. Незв'язані речовини, зокрема білки, фрагменти клітин та інгібітори ПЛР, видаляються в ході кількох операцій промивання.
5. Буфер для елюювання використовується для відокремлення очищених нуклеїнових кислот від магнітних частинок зі скляним покриттям.

■ РЕАГЕНТИ

Склад набору

Компоненти	Вміст
Планшет для реагентів	2 планшети
Протеїназа К	320 мкл (µL), 1 флакон
Стрип із 8 наконечниками	4 стрипи

Планшет для реагентів містить 6 контейнерів реагентів:

Контейнер	Компоненти	Розташування	Об'єм	Опис
1	Буфер для лізису	Стовпчик 1/7	500 мкл (µL) на лунку	Гуанідину тиоціанат
2	Буфер для промивання I	Стовпчик 2/8	600 мкл (µL) на лунку	Гуанідину гідрохлорид, етиловий спирт
3	Буфер для промивання II	Стовпчик 3/9	600 мкл (µL) на лунку	Tris-HCl, етилендіамінтетраоцетова кислота
4	Буфер для промивання III	Стовпчик 4/10	600 мкл (µL) на лунку	Tris-HCl, етилендіамінтетраоцетова кислота
5	Буфер для елюювання	Стовпчик 5/11	80 мкл (µL) на лунку	Tris-HCl
6	Магнітні частинки зі скляним покриттям	Стовпчик 6/12	150 мкл (µL) на лунку	Магнітні частинки зі скляним покриттям

Номер стовпчика позначає положення на планшеті для реагентів, як показано нижче:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Буфер для лізису	Буфер для промивання I	Буфер для промивання II	Буфер для промивання III	Буфер для елюювання	Магнітні частинки зі скляним покриттям	Буфер для лізису	Буфер для промивання I	Буфер для промивання II	Буфер для промивання III	Буфер для елюювання	Магнітні частинки зі скляним покриттям
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

■ ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Лише для професійного використання.
- Перед використанням набору уважно прочитайте всі інструкції.
- Не використовуйте набір після закінчення строку придатності, зазначеного на етикетках.
- Не використовуйте компоненти реагентів із різних партій одночасно.
- Слід уживати відповідних особистих застережних заходів для уникнення контакту будь-яких частин тіла зі зразками й реагентами та дотримуватися місцевих вимог щодо роботи з ними, наприклад використовувати захисні одноразові рукавички, лабораторні халати та засоби захисту очей.
- Заборонено вживати їжу, пити та палити в робочих приміщеннях лабораторії, а також виконувати піпетування ротом.
- Реагенти містять шкідливі або небезпечні речовини. У разі потрапляння реагентів в очі, на шкіру чи на слизові оболонки негайно промийте забруднену ділянку великою кількістю води. У разі розливання реагентів слід розвести проливу речовину водою, перш ніж її витирати.

- Уникайте контакту реагентів чи відходів, що містять гуанідину тиоціанат, із кислотами чи розчином гіпохлориту натрію. Такі суміші виділяють високотоксичний газ.
- Не допускайте мікробного та нуклеазного забруднення відкритих реагентів; використовуйте стерильні одноразові наконечники піпеток, щоб запобігти мікробному й нуклеазному забрудненню реагентів під час забирання аликвотних частин із контейнерів реагентів.
- Використовуйте наконечники піпеток у щільно закритих контейнерах, аби запобігти забрудненню повітря.
- Не торкайтеся поверхні матеріалів руками без рукавичок. Часто міняйте рукавички під час маніпуляцій зі зразками й наборами та ретельно мийте руки після роботи.
- Перед використанням огляньте касети з реагентами й переконайтеся у відсутності ознак витоків. За наявності ознак витоків використовувати матеріал для ізолювання нуклеїнових кислот заборонено.
- Зразки, а також усі реагенти й матеріали, що контактували зі зразками, слід вважати потенційно інфікованими та/або біологічно небезпечними й поводитися з ними із дотриманням місцевих норм.

■ НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ (ВХОДЯТЬ ДО КОМПЛЕКТУ ПОСТАЧАННЯ)

- Набір для екстракції нуклеїнових кислот.

■ НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ (НЕ ВХОДЯТЬ ДО КОМПЛЕКТУ ПОСТАЧАННЯ)

- Повністю автоматична система очищення нуклеїнових кислот: Molecision MP-32 та Molecision MP-96.
- Стандартне лабораторне обладнання: центрифуга для пробірок тощо.
- Витратні матеріали, що не містять РНКаз / ДНКаз: пробірки 1,5 мл (mL) або 2 мл (mL), піпетки, стійкі до дії аерозолів наконечники піпеток, одноразові рукавички з латексу чи вінілу.
- Додатково: велика упаковка стрипів із 8 наконечниками (REF: 132131002H) та 96-лунковий планшет із глибокими лунками (REF: 132131003H).

■ ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Реагенти

- Запечатані компоненти зберігають стабільність при температурі 2–8 °C до кінця терміну придатності, зазначеного на етикетках.
- Не заморожуйте набір.
- Якщо реагенти неможливо використати одразу, перенесіть їх у пробірки, що не містять РНКаз / ДНКаз. Щільно закрийте пробірки кришками та зберігайте до 3 місяців при температурі 2–8 °C.
- Бережіть від сонячних променів і дії магнітів.

Матеріали зразків

- Для екстрагування рекомендовано використовувати свіжі матеріали зразків, які зберігалися не більше 24 годин при температурі 2–8 °C. Якщо це неможливо, дотримуйтеся наведених нижче рекомендацій. Матеріали зразків можна зберігати до 6 місяців при температурі –20±5 °C або до одного року при температурі –70±5 °C.
- Плазма або кров не мають містити гепарин, оскільки це може негативно вплинути на перебіг ПЛР під час даунстрім-процесингу.

Очищені нуклеїнові кислоти

- Для забезпечення високої чутливості визначення очищені нуклеїнові кислоти слід використати негайно або зберігати до 24 годин при температурі 2–8 °C, до 7 діб при температурі –20±5 °C чи до 6 місяців при температурі –70±5 °C.
- У разі заморожування нуклеїнових кислот рекомендовано зберегти аликвотні частини окремо, щоб скоротити до мінімуму цикли заморожування й розморожування.

■ ЕКСТРАГУВАННЯ ЗА ДОПОМОГОЮ ПРИЛАДУ

• Підготовка матеріалів зразків

Матеріали зразків	Методи обробки
Цільна кров, плазма, сироватка	Приготуйте 300 мкл (µL) свіжого чи замороженого зразка без попередньої обробки. Слід забезпечити повну гомогенізацію матеріалу зразка (відсутність згустків у зразках сироватки, антикоагульованої плазми чи цільної крові).
Розчин консервації зразків	Приготуйте 300 мкл (µL) зразка й активно перемішайте у вихровому змішувачі протягом 1 хвилини.
Свіжозаморожена тканина	Додайте 300 мкл (µL) натрій-фосфатного буферного розчину (1×НФБ) до кожного зразка й перемішайте зразок хитальними рухами.
Культивовані клітини	Центрифугуйте відповідний об'єм зразка при 300g протягом 5 хвилин, щоб концентрувати клітини в осаді. Злийте супернатант і знову суспензуйте осад у 300 мкл (µL) натрій-фосфатного буферного розчину 1×НФБ.

Якщо об'єм зразка менший за 300 мкл (µL), додайте відповідну кількість натрій-фосфатного буферного розчину 1×НФБ, щоб довести загальний об'єм до 300 мкл (µL).

Для культивованих клітин концентрація не повинна перевищувати 5×10⁶ клітин/300 мкл (µL); надмірна кількість клітин може негативно вплинути на ефективність екстрагування.

• Підготовка реагенту

Витягніть планшет для реагентів і доведіть його до кімнатної температури. Переверніть планшет три рази, змініть полімерну плівку та недовго центрифугуйте в центрифугі для 96-луноквих планшетів (або збовтайте рукою), щоб запобігти затримці рідини на стінках чи алюмінієвій фользі. Зірвіть алюмінієву фольгу з планшета для реагентів і перевірте напрямок планшета (магнітні мікросфери містяться в стовпчику 6/12).

• Додавання зразка

Додайте 300 мкл (μL) рідкого зразка та 10 мкл (μL) протеїнази К у перший та сьомий стовпчики планшета для реагентів. Будьте обережні, щоб уникнути перехресного забруднення.

Якщо внутрішній контроль треба змішати зі зразком, переконайтеся, що загальний об'єм внутрішнього контролю та зразка не перевищує 300 мкл (μL).

• Завантаження планшета для реагентів

Завантажте планшет для реагентів у повністю автоматичну систему очищення нуклеїнових кислот. Установіть два наконечники на 8 стрипів в один планшет. Molecision MP-32: можна встановити не більше чотирьох наконечників на 8 стрипів та двох планшетів за раз; Molecision MP-96: можна встановити не більше дванадцяти наконечників на 8 стрипів та шести планшетів за раз.

• Налаштування програми

Дотримуйтеся таблиці для налаштування процедур екстрагування приладу або скористуйтеся сканером для зчитування QR-коду на етикетці набору для автоматичного отримання даних процедур екстрагування та збережіть ці процедури екстрагування як шаблон для подальшого використання.

Крок	HolePos	StepNameId	WaitTime (хв:с)	MixTime (хв:с)	MagTime (хв:с)	AdsorptMode	MixMode	Об'єм, мкл (μL)
1	1/7	Лізис	00:00	10:00	00:00	Normal	Висока швидкість	800
2	6/12	Мікросфери	00:00	00:15	00:30	Strong	Середня швидкість	150
3	1/7	Зв'язування	00:00	10:00	00:35	Strong	Середня швидкість	800
4	2/8	Промивання 1	00:00	02:00	00:30	Strong	Низька швидкість	600
5	3/9	Промивання 2	00:00	01:00	00:30	Strong	Низька швидкість	600
6	4/10	Промивання 3	00:00	01:00	00:30	Strong	Низька швидкість	600
7	5/11	Елюювання	02:00	05:00	00:35	Normal	Висока швидкість	80
8	6/12	Видалення	00:00	00:30	00:00	Normal	Висока швидкість	150

Температура лізису складає 75 °C; безперервний підігрів припиняється на кроці 2.

Температура елюювання складає 75 °C; безперервний підігрів починається на кроці 7.

• Зберігання нуклеїнових кислот

Після автоматичного завершення програми перенесіть нуклеїнову кислоту з лунки 5/11 у пробірки, що не містять РНКаз / ДНКаз. Якщо нуклеїнова кислота не використовується негайно, її слід зберігати згідно з інструкціями розділу «ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ. Очищені нуклеїнові кислоти».

Контроль якості

Якщо планується даунстрім-процесинг, додайте до протоколу екстрагування внутрішній контроль.

■ ОБМЕЖЕННЯ

- Ефективність набору була перевірена лише для матеріалів зразків, зазначених у розділі «МАТЕРІАЛИ ЗРАЗКІВ».
- Цей набір має використовуватися лише персоналом з достатнім досвідом застосування методик молекулярної діагностики.
- Недотримання належних умов (часу й температури) для компонентів набору або непропорційна кількість мікроорганізмів у матеріалах зразків можуть стати причиною хибнонегативних результатів.
- Надійність результатів залежить від умов збирання, транспортування, зберігання зразків та поводження з ними й інших факторів, які не оцінювалися.
- Надійність результатів залежить від приладу, який використовується для даунстрім-процесингу нуклеїнових кислот. Будь-яка операція діагностики *in vitro*, що використовує процедуру підготовки зразків у поєднанні з даунстрім-процесингом нуклеїнових кислот для потреб діагностики *in vitro*, має бути підтверджена за окремими параметрами такої діагностики, і всі результати мають інтерпретуватися з урахуванням усіх доступних клінічних і лабораторних даних.
- Щоб звести до мінімуму ризик негативного впливу на результат, слід забезпечити належні засоби контролю даунстрім-процесингу.

■ ЕФЕКТИВНІСТЬ

Аналітична ефективність

Процедура кількісної ПЛР / ЗТ-ПЛР у реальному часі здійснювалася за допомогою приладу Bioer LineGene 9600 з використанням 20 мкл (μL) елюата в загальному об'ємі ПЛР 50 мкл (μL). Контрольні зразки для кількісного визначення додавалися безпосередньо перед початком ПЛР.

Тип зразка	Межа виявлення
Розчин консервації зразків з орофарингеальних мазків (вірус SARS-CoV-2)	120 копій/мл (copies/mL)
Плазма (вірус гепатиту В)	5 МО/мл (IU/mL)

Аналіз точності

Для визначення внутрішньої точності аналізу всі дані було отримано під час одного випробування. Для визначення точності між аналізами різними операторами було проведено три випробування на різних приладах у різних лабораторіях. Точність між партіями визначалася з використанням трьох різних партій.

Тип зразка	Внутрішня точність випробування	Точність між випробуваннями
Розчин консервації зразків з орофарингеальних мазків (вірус SARS-CoV-2)	не більше 3 %	не більше 5 %
Плазма (вірус гепатиту В)	не більше 3 %	не більше 5 %

Ефективність очищення

Для визначення точності ефективності очищення здійснювалося очищення геномної ДНК із цільної крові. Вихід і чистота ізолюваної нуклеїнової кислоти визначалися шляхом вимірювання оптичної щільності. Умови й результати експерименту описано нижче.

Тип зразка	Об'єм, мкл (μL)	Вихід, мкг (μg)	Чистота	
			Оптична щільність 260/280	OD260/230
Цільна кров (2,3x10 ³ лейкоцитів/мл (mL))	100	1,1~1,3	1,8~2,0	1,5~1,7
	200	2,0~2,1	1,8~2,1	1,5~1,7
	300	2,7~3,0	1,9~2,0	1,6~1,8
Культивовані клітини (5,4x10 ⁸ клітин/мл (mL))	30	8,6~9,2	1,8~2,1	1,5~1,8
	300	24,3~27,6	1,9~2,1	1,6~1,8

■ ПОСИЛАННЯ

- Alfredo Ribeiro-Silva, et al. RNA extraction from ten year old formalin-fixed paraffin-embedded breast cancer samples: a comparison of column purification and magnetic bead-based technologies. BMC Mol Biol . 2007;8:118.

■ ДОДАТКОВА ІНФОРМАЦІЯ

Molecision™ є торговою маркою компанії Snibe. Усі інші найменування продуктів і торгової марки належать відповідним власникам.

■ ЗНАЧЕННЯ СИМВОЛІВ

	Див. інструкцію з використання		Виробник
	Температурний діапазон (зберігати при температурі 2–8 °C)		Кінцева дата терміну придатності
	Вмісту достатньо для <n> тестів		Бережіть від прямих сонячних променів
	Цим боком догори		Код партії
	Медичний прилад для діагностики <i>in vitro</i>		Уповноважений представник в Європейському союзі
	Номер за каталогом		Маркування CE
	Знак відповідності технічним регламентам		

Шеньчжень Нью Індастріз Біомедікал Інжинірінг Ко., Лтд.
№23 Джінксіу Еаст Роад, Пінгшан Дістрікт, 518122 Шеньчжень, Китайська Народна Республіка
Тел: +86 755 21536601 Факс: +86 755 28292740

Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)
Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany
Тел.: +49 40 25 13 175 Факс: +49 40 25 57 26

Уповноважений представник в Україні:
ТОВ «Кратія Медтехніка», вул. Багговутівська, 17-21, 04107, м. Київ, Україна.
Тел.: 0 800 21-52-32 (безоплатно можуть телефонувати абоненти фіксованого та мобільного телефонного зв'язку з будь-якої точки України).
Електронна пошта: uagrep@cratia.ua

Дата останнього перегляду інструкції із застосування: червень 2021 року.