

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

Termék	Kivonási ciklus
M6399-01CEIVD	4 x 96 kivonási ciklus

Kézikönyv dátuma: 2025. Április
Változat száma: v1.2

IVD

In vitro diagnosztikus felhasználásra

CE

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

Tartalomjegyzék

Felhasználási terület és felhasználó.....	2
Termékleírás.....	3
A készlet tartalma.....	4
Tárolás és stabilitás.....	4
Mágneses elválasztó eszközök és műanyag edények.....	4
Reagensok elkészítése.....	5
Minőségellenőrzés.....	6
Figyelmeztetések/Biztonsági információ.....	6
Óvintézkedések.....	7
Korlátozások.....	9
Vér protokoll.....	10
Szöveti protokoll.....	14
Sejtkultúra protokoll.....	19
Nyál protokoll.....	24
Szájüregi kenet protokoll.....	28
Kapcsolatfelvételi információk.....	32
Szimbólumok.....	33
Változtatások listája.....	35
Megjegyzések és jogi nyilatkozat.....	36

Kézikönyv dátuma: 2025.Április

Változat száma: v1.2



Tervezett felhasználás

In vitro diagnosztikus felhasználásra.

A Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD genom DNS alábbiakból való izolálására és tisztítására szolgál: friss vagy fagyasztott tenyésztett sejtek vagy szövetek, legfeljebb 250 µl teljes vér, szájúregi kenetek, legfeljebb 500 µl nyál és száraz vércseppek.

A Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD mágneses gyöngy alapú technológiával működik és manuálisan vagy automatizálva is használható a legtöbb nyitott végű folyadékkezelő platformon, valamint mágneses feldolgozó készülékekben.

Tervezett felhasználó

A készletet szakmai felhasználásra szánták.

A Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD molekuláris biológiai technikákban képzett és manuális vagy automatizált, mágneses gyöngy alapú tisztításban jártas szakmai felhasználók (például laboratóriumi személyzet, technikusok, kutatók és orvosok) általi in vitro alkalmazásra tervezték.

A termék leírása

A Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD egy megbízható módszert biztosít kiváló minőségű DNS izolálására számos különböző típusú mintából, például friss vagy fagyasztott állati tenyésztett sejtekből vagy szövetekből, legfeljebb 250 µl teljes vérből, szájüregi kenetektől, legfeljebb 500 µl nyálból és száraz vércseppekből. A Mag-Bind® HDQ részecskék gyors mágneses választ adnak, ami csökkenti a teljes feldolgozási időtartamot. A rendszer kombinálja a Mag-Bind® paramágneses részecskék visszafordítható nukleinsav-kötő képességét az Omega Bio-tek időtálló hatékonyságú pufferoldataival, ami egy gyors és kényelmes módszert biztosít DNS izolálására különböző mintákból. A tisztítási eljárás kiváló minőségű DNS-t eredményez, ami alkalmas a legtöbb további alkalmazásban, például az amplifikálásban, új generációs szekvenálásban és enzimreakciókban való közvetlen felhasználásra.

Amennyiben első alkalommal használja a Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD, kérjük, olvassa el teljes egészében ezt a kézikönyvet, hogy megismerkedjen az eljárásokkal. A minták lizálása olyan puffer-rendszerekben történik, amelyek specifikusan a kiinduló anyag típusára vannak szabva. Lizálás után a mintákat HDQ kötőpufferrel és Mag-Bind® HDQ részecskékkel keverik össze, hogy a DNS a mágneses gyöngyökhöz kötődjön. A paramágneses részecskék elválasztása a lizátumoktól egy mágneses elválasztó eszköz segítségével történik. A nyomokban jelenlevő szennyeződések eltávolítását célzó néhány gyors mosási lépés után a DNS elúciós pufferben való elúciója következik.

A DNS/RNS izolálására és tisztítására szolgáló módszerek áttekintése megtalálható a következő hivatkozott irodalomban^{1,2}.

Fontos:

1. Amennyiben ezt a folyamatot egy folyadékkezelőn vagy mágneses feldolgozón automatizálja, kérjük, lépjen kapcsolatba az Omega Bio-tek képviselőjével a készülékre vonatkozó utasítások megszerzése érdekében.
2. A készletek a megadott számú kivonási ciklus elvégzéséhez elégséges reagenst tartalmaznak, valamint további 10%-nyi többletet, hogy biztosan elég legyen a mennyiség. Kérjük, vegye figyelembe, hogy a kivonási ciklusok tényleges száma kisebb lehet a reagensek előzetes alikvótólása, részleges feltöltött lemezek feldolgozása és a használt automatikus platform stb. miatt.

¹ Ali, N., Rampazzo, R., Costa, A., & Krieger, M. A. (2017). Current Nucleic Acid Extraction Methods and Their Implications to Point-of-Care Diagnostics. *BioMed research international*, 2017, 9306564. <https://doi.org/10.1155/2017/9306564>

² Geciova, J., Bury, D., & Jelen, P. (2002). Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry—a review. *International Dairy Journal*, 12(6), 541-553.

A készlet tartalma

Termék	M6399-01CEIVD
Tisztítási folyamat	4 x 96
AL puffer	125 ml
TL puffer	120 ml
HDQ kötőpuffer	40 ml
VHB puffer	230 ml
SPM puffer	150 ml
Elúciós puffer	250 ml
Proteináz K oldat	9 ml
Mag-Bind® HDQ részecskék	9 ml

Tárolás és stabilitás

A Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD összes összetevője a vásárlás időpontjától számított legalább 12 hónapig garanciális az alábbi tárolási előírások betartása esetén. A proteináz K oldat szobahőmérsékleten tárolható legfeljebb 12 hónapig. Hosszú távú tárolás érdekében a proteináz K oldat tárolása 2-8 °C között kell történnjen. Minden más összetevő tárolása az üveg címkéjén feltüntetett javasolt hőmérséklet-tartományban kell történnjen. A termék felbontása után a termék kezelését a címkén feltüntetett utasítások szerint végezze. Bizonyosodjon meg arról, hogy minden használat után a kupakok megfelelően meg vannak szorítva. Egyes pufferekben üledék képződhet szállítás vagy hűvös környezeti feltételek között való tárolás során. Ezen lerakódások feloldását az oldat 37 °C-ra való melegítésével és óvatos rázogatóásával végezheti el.

Mágneses elválasztó eszközök és műanyag edények

Miközben számos mágneses elválasztó eszköz kompatibilis a Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD, az Alpaqua's Magnum™ EX univerzális mágneses lemez (cikkszám: A000380) és Nunc 2 ml DeepWell™ lemezek (cikkszám: 278752) használata javasolt.

Ez a kombináció gyors mágnesezési időket biztosít, ami mindössze 1 perc a teljes mágnesezéshez a mosási lépések és 5 perc a lizátum tisztítási lépések alatt.

A választott mágneses elválasztó eszköztől függetlenül bizonyosodjon meg arról, hogy az eszköz kompatibilis a készlethez szükséges műanyag edényekkel.

Reagensek elkészítése

1. Hígítsa fel az SPM puffert 350 ml 100%-os etanollal és tárolja szobahőmérsékleten.
2. Készítse el a VHB puffert 290 ml 100%-os etanollal és tárolja szobahőmérsékleten.
3. Készítse el a HDQ kötőpuffert 160 ml 100%-os izopropanollal és tárolja szobahőmérsékleten.
4. A részecskék használat előtti teljes reszuszpendálása érdekében rázza fel vagy vortexelje a Mag-Bind® HDQ részecskéket. A megfelelő kötődés biztosítása érdekében a részecskék teljesen szuszpendált állapotban kell legyenek.

Minőségellenőrzés

Az Omega Bio-tek ISO által tanúsított minőségbiztosítási rendszerének megfelelően, a Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD összes reagensét tételenként, rutinszerűen vizsgálják előre meghatározott specifikációk szerint, a teljesítmény megbízhatóságának és a termék minősége konzisztenciájának biztosítása érdekében.

Figyelmeztetések

A készlet in vitro diagnosztikus felhasználásra használandó.

A készlet használata előtt kérjük, figyelmesen olvassa el az utasításokat.

Kérjük, hogy fertőtlenítsen és megfelelően ártalmatlanítsa a potenciálisan fertőző anyagokat a vonatkozó helyi, országos és európai szabályozásoknak megfelelően. Az Európai Unióban levő ügyfeleket kérjük, vegyék figyelembe, hogy jelenteniük kell az eszközzel kapcsolatosan bekövetkező súlyos incidenseket a gyártónak és azon tagállam illetékes hatóságainak, ahol a felhasználó és/vagy a páciens található. Mindennemű támogatásért kérjük, lépjen kapcsolatba az Omega Bio-tek vállalattal az info@omegabiotek.com címen.

Amennyiben egy automatizált kivonási munkafolyamatot követően használja ezt a készletet, az automatizált platform felülete biológiailag veszélyesnek minősül. Használjon megfelelő fertőtlenítési és ártalmatlanítási módszereket a vonatkozó helyi, megyei vagy országos szabályozásoknak megfelelően.

Biztonsági információk




Minden vegyszer és biológiai anyag potenciálisan veszélyes.

A biológiai minták, például a plazma, szérum, szövetek, testfolyadékok, vér stb., potenciálisan fertőzőek és biológiailag veszélyes anyagokként kezelendők. Minden munkát megfelelően felszerelt munkahelyeken kell végezni, az általános óvintézkedések betartásával és megfelelő személyes védőfelszerelés, például egyszer használatos kesztyű, köpeny, védőszemüveg stb., használatával, a munkahely által körvonalazott irányelvek és eljárások szerint.

A készletben található különböző reagensek biztonságos kezelésére, szállítására és ártalmatlanítására vonatkozó információkért olvassa el a biztonsági adatlapokat (SDS). Az SDS-ek PDF formátumban érhetők el a termék oldalán a www.omegabiotek.com webhelyen. A hulladékok ártalmatlanítását a helyi biztonsági szabályozások szerint végezze.

Óvintézkedések

A Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD található egyes pufferek guanidin-alapú kaotropikus szereket tartalmaznak, amelyek rendkívül reakcióképes vegyületeket képezhetnek, amikor fehéritővel kombinálják azokat. **NE adjon fehéritőt vagy savas oldatokat** a minta előkészítése után visszamaradt, guanidint tartalmazó hulladékhoz. A reagensekre vonatkozó részletes információkért kérjük, olvassa el online az SDS-t.

Összetevő	Leírás
AL puffer 	Tartalmaz: Guanidin-hidroklorid. Figyelem! Súlyos szemirritációt okoz. Bőrirritációt okoz. Lenyelve ártalmas. Ne egyen, igyon vagy dohányozzon a termék használata közben. A kezelés után alaposan mossa le az összes kített külső testrészt. Viseljen védőkesztyűt, védőruházatot, szemvédőt és arcvédőt. SZEMBE KERÜLÉS: Óvatosan öblítse ki vízzel néhány percig. Távolítsa el a kontaktlencsákat, ha van és könnyen elvégezhető. Folytassa az öblítést. Forduljon orvoshoz, ha a szemirritáció továbbra is fennáll. A szennyezett ruházatot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. BŐRRE KERÜLÉS: Mossa le bő vízzel és szappannal. Bőrirritáció vagy bőrkiütés esetén forduljon orvoshoz. LENYELÉS: Öblítsük ki a száját. Rosszullét esetén forduljon toxikológiai központhoz vagy orvoshoz.
TL puffer 	Tartalma: anionos mosószer. Figyelmeztetés! Súlyos szemirritációt okoz. Allergiás bőrreakciót válthat ki. Kerülje a köd/gőzök/permet belélegzését. Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem/arcvédőt kell viselni. SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Ha a szemirritáció nem múlik el, orvosi ellátást kell kérni. HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő vízzel és szappannal. Bőrirritáció vagy kiütés esetén orvosi ellátást kell kérni. A szennyezett ruhadarabokat újbóli használat előtt ki kell mosni.
Proteináz K oldat 	Tartalma: proteináz K. Veszély! Enyhén bőrizgató hatású. Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket vagy nehézlégzést okozhat. Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem/arcvédőt kell viselni. Légzésvédőt kell viselni. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: forduljon toxikológiai központhoz vagy orvoshoz. Az érintett személyt friss levegőre kell vinni és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni.

Övintézkedések

Összetevő	Leírás
HDQ kötőpuffer	Tartalmaz: Nátrium-perklorát. Veszély! Ismétlődő vagy hosszabb expozíció esetén károsíthatja a szerveket. Tüzet vagy robbanást okozhat; erős oxidálószer. Lenyelve ártalmas. Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás. Tartsa távol ruházattól és más éghető anyagoktól. Ne lélegezze be a ködöt/gőzt/permetet. A kezelés után alaposan mossa le az összes kitett külső testrészt. Ne egyen, igyon vagy dohányozzon a termék használata közben. Viseljen védőkesztyűt és védőruházatot. LENYELÉS: Öblítsük ki a száját. Rosszullét esetén forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/ orvoshoz/orvoshoz/elsősegélynyújtóhoz. RUHÁRA: A szennyezett ruházatot és bőrt azonnal le kell mosni bő vízzel, mielőtt levenné a ruhát. Ha rosszul érzi magát, forduljon orvoshoz. Tűz esetén: az oltáshoz használja.... Nagyobb tűz és nagy mennyiségek esetén: A területet evakuálni kell. A robbanásveszély miatt távolról oltsa a tüzet.
VHB puffer	Tartalma: guanidin hidroklorid. Figyelmeztetés! Súlyos szemirritációt okoz. Bőrizgató hatású. Allergiás bőrreakciót válthat ki. Lenyelve ártalmas. Kerülje a köd/gőzök/permet belélegzését. A termék használata közben tilos enni, inni vagy dohányozni. Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem/ arcvédőt kell viselni. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: forduljon toxikológiai központhoz vagy orvoshoz. SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percre tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Ha a szemirritáció nem múlik el, orvosi ellátást kell kérni. Az összes szennyezett ruhadarabot le kell vetni, és újbóli használat előtt ki kell mosni. HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő vízzel és szappannal. Bőrirritáció vagy kiütés esetén orvosi ellátást kell kérni. LENYELÉS ESETÉN: A száját ki kell öblíteni. Rosszullét esetén forduljon toxikológiai központhoz vagy orvoshoz.

Korlátozások

A készlet teljesítményének felmérése genomikus DNS 250 µl teljes vérből, szájüregi kenetekből, 500 µl tartósított nyálból és tenyésztett sejtekből való izolálásával történt. A készlet teljesítményének további validálása a tisztított genomikus DNS megfelelőségének értékelésével történt közvetlenül rákövetkező elemzésekben, standard amplifikációs módszerrel. Kérjük, vegye figyelembe, hogy az Omega Bio-tek által végzett teljesítmény-felmérésbe bele nem foglalt eljárások teljesítmény-jellemzőinek ellenőrzése a felhasználó felelőssége. A felhasználó ugyancsak felelős a rákövetkező választott diagnosztikus alkalmazáshoz szükséges teljesítmény-jellemzők megállapításáért. A Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD tisztított genomikus DNS-t használó mindenféle rákövetkező diagnosztikus alkalmazás esetén megfelelő kontrollokat kell alkalmazni.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

Protokoll vérhez

Az alábbi eljárás 250 µl FRISS vagy FAGYASZTOTT vérmintákkal való használatra volt optimalizálva. Határréteg (buffy coat) ugyancsak használható.

Fontos: Amennyiben ezt a folyamatot egy folyadékkezelőn vagy mágneses feldolgozón automatizálja, kérjük, lépjen kapcsolatba az Omega Bio-tek képviselőjével a készülékre vonatkozó utasítások megszerzése érdekében.

A felhasználó által biztosított anyagok és reagensek:

- Mágneses elválasztó eszköz (javasolt: Alpaqua Magnum™ EX, cikkszám A000380)
- Vortex keverő
- Melegítő blokk, inkubátor vagy 70 °C létrehozására képes vízfürdő
- 96 lyukú mikrolemez (500 µl) vagy kívánt elúciós lemez
- 2 ml-es 96 lyukú, mély lyukú lemez (javasolt: Nunc, cikkszám 278752) vagy a kívánt lemez, amely kompatibilis a mágneses elválasztó eszközzel
- Többcsatornás pipetták és reagens tartályok
- 100%-os etanol
- 100%-os izopropanol
- Nukleázmentes víz
- Opcionálisan: RNáz A (10 mg/ml)
- Opcionálisan: PBS

Kezds előtt:

- Készítse elő az SPM puffert, VHB puffert és HDQ kötőpuffert az 5. oldalon levő Reagensek elkészítése c. rész szerint.
- Állítsa a melegítő blokkot, inkubátort vagy vízfürdőt 70 °C-ra.

1. Készítsen egy törzsoldat keveréket AL puffer és proteináz K oldat felhasználásával, kizárólag az alábbi táblázat szerint kivonásra kerülő minták számára:

Összetevő	Kivonási ciklusonkénti mennyiség	96 lyukú lemezenkénti teljes mennyiség
AL puffer	290 µl	30,6 ml*
Proteináz K oldat	20 µl	2,1 ml*

* 10% többlettérfogattal számoltunk egy 96 lyukú lemezre vonatkoztatva.

Fontos: Csak annyi AL puffer/proteináz K oldat törzsoldat keveréket készítsen, amennyit az elkészítés után 4 órán belül fel is használ.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

2. Tegyen 250 µl vérmintát egy 2 ml-es 96 lyukú, mély lyukú lemezbe (nincs mellékelve). Ha a vér térfogata kisebb, mint 250 µl, töltse fel a térfogatot 250 µl-ig PBS-sel (nincs mellékelve) vagy elúciós pufferrel (a készletben megtalálható).
3. Mindegyik mintához adjon hozzá 310 µl AL puffer/proteináz K oldat törzsoldat keveréket. Vortexelje vagy fel és le pipettázza 20-szor, hogy összekeverje. A megfelelő keverés életbevágó a jó hozamhoz.

Megjegyzés: Az automatizált protokollok esetén a hegykeverés adja a legjobb hozamot és ennek használata javasolt.

4. Inkubálja 70 °C-on 10 percig.

Opcionális: Mindegyik mintához adjon hozzá 5 µl RNáz A-t. Keverje vortexeléssel. Hagyja szobahőmérsékleten 2 percig.

5. Mindegyik mintához adjon hozzá 400 µl HDQ kötőpuffert és 20 µl Mag-Bind® HDQ részecskét. Vortexeléssel keverje 10 percig.

Megjegyzés:

- A HDQ kötőpuffert használat előtt 100%-os izopropanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt. A HDQ kötőpuffer és a Mag-Bind® HDQ részecskék elkészíthetők törzsoldat keverékként. Csak annyit készítsen el, amennyi szükséges a futtatáshoz.
- Ha 10 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 2 percenként 30 másodpercig 10 percen át.

6. Tegye a lemezt egy mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.
7. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.
8. Vegye le a lemezt a mágneses elválasztó eszközről.
9. Mindegyik mintához adjon hozzá 600 µl VHB puffert.

Megjegyzés: A VHB puffert használat előtt 100%-os etanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt.

10. Keveréshez vortexelje 15 másodpercig.

Megjegyzés: A jó tisztaság eléréséhez életbevágó a Mag-Bind® HDQ részecskék teljes reszuszpenziója.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

11. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.
12. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.
13. Vegye le a lemezt a mágneses elválasztó eszközről.
14. Ismételje meg a 9.-13. lépéseket egy második VHB puffer lépés keretében.
15. Mindegyik mintához adjon hozzá 600 µl SPM puffert.

Megjegyzés: Az SPM puffert használat előtt 100%-os etanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt.

16. Keveréshez vortexelje 15 másodpercig.
17. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.
18. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.
19. Válassza ki az egyiket az alábbi etanol-eltávolítási lépések közül:
 - A. Hagyja a lemezt a mágneses elválasztó eszközön. Adjon hozzá 500 µl nukleázmentes vizet (nincs mellékelve), hagyja a mágnezt bekapcsolva 20-30 másodpercig, majd aspirálja. Ne hagyja a nukleázmentes vizet a Mag-Bind® HDQ részecskéken több, mint 60 másodpercig. Folytassa a 20. lépéssel.

VAGY

- B. Hagyja a lemezt a mágneses elválasztó eszközön. Várjon 1 percet. Pipettával távolítsa el a reziduális folyadékot. Szárítsa a Mag-Bind® HDQ részecskéket további 10 percig. Folytassa a 20. lépéssel.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

20. Vegye le a lemezt a mágneses elválasztó eszköztől.
21. Adjon hozzá 50-200 µl elúciós puffert nukleázmentes vizet a DNS Mag-Bind® HDQ részecskékről való eluálása érdekében.

Megjegyzés: Melegítse fel az elúciós puffert vagy nukleázmentes vizet 70 °C-ra a hozam javítása érdekében.

22. Vortexeléssel keverje 5 percig.

Megjegyzés: Ha 5 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 1-2 percenként 15 másodpercig 5 percen át.

23. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

24. Tegye át a tisztított DNS-t tartalmazó felülúszót egy 96 lyukú mikrolemezre (nincs mellékelve). A DNS tárolását -20 °C-on végezze.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

Protokoll szövethez

Ez a módszer lehetővé teszi genomikus DNS izolálását legfeljebb 10 mg szövetből. A hozam a forrás függvényében változik.

Fontos: Amennyiben ezt a folyamatot egy folyadékkezelőn vagy mágneses feldolgozón automatizálja, kérjük, lépjen kapcsolatba az Omega Bio-tek képviselőjével a készülékre vonatkozó utasítások megszerzése érdekében.

A felhasználó által biztosítandó anyagok és felszerelések:

- Mágneses elválasztó eszköz (javasolt: Alpaqua Magnum™ EX, cikkszám A000380)
- Vortex keverő
- Centrifugálja 4000 g létrehozására képes billenőkosaras rotorral.
- Centrifuga adapter 96 lyukú lemezekhez
- 55 °C létrehozására képes rázó vízfürdő
- 96 lyukú mikrolemez (500 µl) vagy kívánt elúciós lemez
- 2 ml-es 96 lyukú, mély-lyukú lemezek (javasolt: Nunc, cikkszám 278752) vagy a kívánt lemez, amely kompatibilis a mágneses elválasztó eszközzel
- Többcsatornás pipetták és reagens tartályok
- 100%-os etanol
- 100%-os izopropanol
- Nukleázmentes víz
- Javasolt: 1M ditiotreitól (DTT)
- Opcionálisan: RNáz A (10 mg/ml)
- Opcionálisan: melegítő blokk, inkubátor vagy 70 °C létrehozására képes vízfürdő
- Opcionális: folyékony nitrogén és mozsár és törő

Kezdsé előtt:

- Készítse elő az SPM puffert, VHB puffert és HDQ kötőpuffert az 5. oldalon levő Reagensek elkészítése c. rész szerint.
- Állítsa a vízfürdőt 55 °C-ra.
- Opcionális: állítsa a vízfürdőt, inkubátort vagy melegítő blokkot 70 °C-ra.
- Javasolt: Használat előtt adjon hozzá 40 µl 1M-os DTT-t minden 1 ml TL pufferhez.

OPCIONÁLISAN: Habár a szövet mechanikus homogenizálása nem szükséges, a minták folyékony nitrogénben való porítása javítja a lízist és csökkenti az inkubációs időt. Miután a folyékony nitrogén elpárolgott, tegye át a porított szövetet egy tiszta 96 lyukú, mély lyukú lemezre (nincs mellékelve). Adjon hozzá 250 µl TL puffert és folytassa a 3. lépéssel a következő oldalon.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

1. Aprítson fel 10 mg szövetet és tegye át egy 96 lyukú, mély lyukú lemezre (nincs mellékelve).

Megjegyzés: A szövet kis darabokra való felvágása felgyorsíthatja a lízist.

2. Mindegyik mintához adjon hozzá 250 µl TL puffert.

Opcionálisan: Haj vagy egyéb nehezen lízálható szövetek esetében egy TL puffert és DTT-t tartalmazó törzsoldat keverék javasolt.

- Hígítsa fel a DTT-t TL pufferrel 40 mm végleges koncentrációra.
- Használat előtt adjon hozzá 40 µl 1M-os DTT-t minden 1 ml TL pufferhez.
- Csak annyi TL puffer/DTT törzsoldat keveréket készítsen, amennyit azonnal felhasználnak.

3. Mindegyik mintához adjon hozzá 20 µl proteináz K oldatot. Keverje vortexeléssel.

4. Inkubálja 55 °C-on, rázó vízfürdőben.

Megjegyzés: Ha rázó vízfürdő nem áll rendelkezésre, vortexelje a mintát 20-30 percenként. A lízis időtartama a szövet mennyiségétől és típusától függ, de általában kevesebb, mint 3 óra. A lízis elvégezhető éjszaka is.

Opcionális: Mindegyik mintához adjon hozzá 5 µl RNáz A-t. Keverje vortexeléssel. Hagyja szobahőmérsékleten állni 2 percig.

5. Az emésztetlen szövettörmelék szemcsékbe gyűjtése érdekében centrifugálja maximális sebességen ($\geq 4000g$) 5 percig.
6. Óvatosan tegyen át 200 µl felülúszót egy új 96 lyukú, mély lyukú lemezre, anélkül, hogy felzavarná az emésztetlen szemcsét.
7. Mindegyik mintához adjon hozzá 230 µl AL puffert. Vortexeléssel keverje 10 percig. A megfelelő keverés életbevágó a jó hozamhoz.

Megjegyzés:

- Az automatizált protokollok esetén a hegykeverés esetén a legjobb a hozam és ennek használata javasolt.
- Ha 10 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 2 percenként 30 másodpercig 10 percen át.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

8. Mindegyik mintához adjon hozzá 320 µl HDQ kötőpuffert és 20 µl Mag-Bind® HDQ részecskét. Vortexeléssel keverje 10 percig.

Megjegyzés:

- A HDQ kötőpuffert használat előtt 100%-os izopropanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt. A HDQ kötőpuffer és a Mag-Bind® HDQ részecskék elkészíthetők törzsdolat keverékként. Csak annyit készítsen el, amennyi szükséges a futtatáshoz.
- Ha 10 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 2 percenként 30 másodpercig 10 percen át.

9. Tegye a lemezt egy mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

10. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.

11. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszköztől.

12. Mindegyik mintához adjon hozzá 600 µl VHB puffert.

Megjegyzés: A VHB puffert használat előtt 100%-os etanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt.

13. Keveréshez vortexelje 15 másodpercig.

Megjegyzés: A jó tisztaság eléréséhez életbevágó a Mag-Bind® HDQ részecskék teljes reszuszpenziója.

14. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

15. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.

16. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszköztől.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

17. Ismétlje meg a 12.-16. lépéseket egy második VHB puffer lépés keretében.

18. Mindegyik mintához adjon hozzá 600 µl SPM puffert.

Megjegyzés: Az SPM puffert használat előtt 100%-os etanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt.

19. Keveréshez vortexelje 15 másodpercig.

20. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

21. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülűszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.

22. Válassza ki az egyiket az alábbi etanol-eltávolítási lépések közül:

A. Hagyja a lemezt a mágneses elválasztó eszközön. Adjon hozzá 500 µl nukleázmentes vizet (nincs mellékelve), hagyja a mágnezt bekapcsolva 20-30 másodpercig, majd aspirálja. Ne hagyja a nukleázmentes vizet a Mag-Bind® HDQ részecskéken több mint 60 másodpercig. Folytassa a 23. lépéssel.

VAGY

B. Hagyja a lemezt a mágneses elválasztó eszközön. Várjon 1 percet. Pipettával távolítsa el a reziduális folyadékot. Szárítsa a Mag-Bind® HDQ részecskéket további 10 percig. Folytassa a 23. lépéssel.

23. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszköztől.

24. Adjon hozzá 100-200 µl elúciós puffert nukleázmentes vizet a DNS Mag-Bind® HDQ részecskékről való eluálása érdekében.

Megjegyzés: Melegítse fel az elúciós puffert vagy nukleázmentes vizet 70 °C-ra a hozam javítása érdekében.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

25. Vortexeléssel keverje 5 percig.

Megjegyzés: Ha 5 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 1-2 percenként 15 másodpercig 5 percen át.

26. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

27. Tegye át a tisztított DNS-t tartalmazó felülúszót egy 96 lyukú mikrolemezre (nincs mellékelve). A DNS tárolását -20 °C-on végezze.

Protokoll tenyésztett sejtekhez

A protokollt legfeljebb 25 µg genomikus DNS gyors izolálására tervezték, legfeljebb 5 x 10⁶ tenyésztett sejtből.

Fontos: Amennyiben ezt a folyamatot egy folyadékkezelőn vagy mágneses feldolgozón automatizálja, kérjük, lépjen kapcsolatba az Omega Bio-tek képviselőjével a készülékre vonatkozó utasítások megszerzése érdekében.

A felhasználó által biztosítandó anyagok és felszerelések:

- Mágneses elválasztó eszköz (javasolt: Alpaqua Magnum™ EX, cikkszám A000380)
- Vortex keverő
- Centrifugálja 4000 g létrehozására képes billenőkosaras rotorral.
- 55 °C létrehozására képes rázó vízfürdő
- 96 lyukú mikrolemez (500 µl) vagy kívánt elúciós lemez
- 2 ml-es 96 lyukú, mély lyukú lemezek (javasolt: Nunc, cikkszám 278752) vagy egy kívánt lemez, amely kompatibilis a mágneses elválasztó eszközzel
- Többcsatornás pipetták és reagens tartályok
- Hideg PBS (4 °C)
- 100%-os etanol
- 100%-os izopropanol
- Nukleázmentes víz
- Opcionálisan: RNáz A (10 mg/ml)
- Opcionálisan: melegítő blokk, inkubátor vagy 70 °C létrehozására képes vízfürdő
- Opcionális: tripszin és sejtkaparó

Kezdés előtt:

- Készítse elő az SPM puffert, VHB puffert és HDQ kötőpuffert az 5. oldalon levő Reagens elkészítése c. rész szerint.
- Állítsa a rázó vízfürdőt 55 °C-ra.
- Opcionális: állítsa a vízfürdőt, inkubátort vagy melegítő blokkot 70 °C-ra.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

1. Készítse elő a sejtuszpenziót.
 - 1a. A protokoll elkezdése előtt a fagyasztott sejtmintákat ki kell olvasztani. Centrifugálással szemcsésítse a sejteket. Mossa át a sejteket hideg PBS-sel (4 °C) és reszuszpendálja azokat 180 µl hideg PBS-ben. Folytassa a protokoll 2. lépésével.
 - 1b. Szuszpenzióban tenyésztett sejtek esetén szemcsésítsen 5×10^6 sejtet 1200g sebességgel egy centrifugacsőben. Dobja ki a felülúszót, mossa át egyszer a sejteket hideg PBS-sel (4 °C) és reszuszpendálja azokat 180 µl hideg PBS-ben. Folytassa a protokoll 2. lépésével.
 - 1c. Egy rétegben tenyésztett sejtek esetében gyűjtse be a sejteket tripszines kezeléssel vagy sejtkaparóval. Mossa át kétszer a sejteket hideg PBS-sel (4 °C) és reszuszpendálja azokat 180 µl hideg PBS-sel. Folytassa a protokoll 2. lépésével.
2. Készítsen egy törzsoldat keveréket AL puffer és proteináz K oldat felhasználásával, kizárólag az alábbi táblázat szerint kivonásra kerülő minták számára:

Összetevő	Kivonási ciklusonkénti mennyiség	96 lyukú lemezenkénti teljes mennyiség
AL puffer	230 µl	24,3 ml*
Proteináz K oldat	20 µl	2,1 ml*

* 10% többlettérfogattal számoltunk a 96 lyukú lemezre vonatkoztatva.

Fontos: Csak annyi AL puffer/proteináz K oldat törzsoldat keveréket készítsen, amennyit az elkészítés után 4 órán belül fel is használ.

3. Mindegyik mintához adjon hozzá 250 µl AL puffer/proteináz K oldat törzsoldat keveréket. Vortexeléssel keverje 10 percig. A megfelelő keverés életbevágó a jó hozamhoz.

Megjegyzés:

- Az automatizált protokollok esetén a hegykeverés adja a legjobb hozamot és ennek használata javasolt.
- Ha 10 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 2 percenként 30 másodpercig 10 percen át.

4. Inkubálja 55 °C-on, rázó vízfürdőben 10 percig.

Megjegyzés: Ha rázó vízfürdő nem áll rendelkezésre, vortexelje a mintákat 2-3 percenként.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

5. Tegye át a mintákat egy 96 lyukú, mély lyukú lemezre (nincs mellékelve).

Opcionális: mindegyik mintához adjon hozzá 5 µl RNáz A-t. Keverje vortexeléssel. Hagyja szobahőmérsékleten állni 2 percig.

6. Mindegyik mintához adjon hozzá 320 µl HDQ kötőpuffert és 20 µl Mag-Bind® HDQ részecskét. Vortexeléssel keverje 10 percig.

Megjegyzés:

- A HDQ kötőpuffert használat előtt 100%-os izopropanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt. A HDQ kötőpuffer és a Mag-Bind® HDQ részecskék elkészíthetők törzsoldat keverékként. Csak annyit készítsen el, amennyi szükséges a futtatáshoz.
- Ha 10 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 2 percenként 30 másodpercig 10 percen át.

7. Tegye a lemezt egy mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

8. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülűszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.

9. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszközről.

10. Mindegyik mintához adjon hozzá 600 µl VHB puffert.

Megjegyzés: A VHB puffert használat előtt 100%-os etanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt.

11. Keveréshez vortexelje 15 másodpercig.

Megjegyzés: A jó tisztaság eléréséhez életbevágó a Mag-Bind® HDQ részecskék teljes reszuszpenziója.

12. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

13. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.

14. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszköztől.

15. Ismételje meg a 10.-14. lépéseket egy második VHB puffer lépés keretében.

16. Mindegyik mintához adjon hozzá 600 µl SPM puffert.

Megjegyzés: Az SPM puffert használat előtt 100%-os etanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt.

17. Keveréshez vortexelje 15 másodpercig.

18. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

19. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.

20. Válassza ki az egyiket az alábbi etanol-eltávolítási lépések közül:

A. Hagyja a lemezt a mágneses elválasztó eszközön. Adjon hozzá 500 µl nukleázmentes vizet (nincs mellékelve), hagyja a mágnezt bekapcsolva 20-30 másodpercig, majd aspirálja. Ne hagyja a nukleázmentes vizet a Mag-Bind® HDQ részecskéken több mint 60 másodpercig. Folytassa a 21. lépéssel.

VAGY

B. Hagyja a lemezt a mágneses elválasztó eszközön. Várjon 1 percet. Pipettával távolítsa el a reziduális folyadékot. Szárítsa a Mag-Bind® HDQ részecskéket további 10 percig. Folytassa a 21. lépéssel.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

21. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszköztől.
22. Adjon hozzá 50-200 µl elúciós puffert nukleázmentes vizet a DNS Mag-Bind® HDQ részecskékről való eluálása érdekében.

Megjegyzés: Melegítse fel az elúciós puffert vagy nukleázmentes vizet 70 °C-ra a hozam javítása érdekében.

23. Vortexeléssel keverje 5 percig.

Megjegyzés: Ha 5 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 1-2 percenként 15 másodpercig 5 percen át.

24. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.
25. Tegye át a tisztított DNS-t tartalmazó felülűszót egy 96 lyukú mikrolemezre (nincs mellékelve). A DNS tárolását -20 °C-on végezze.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

Protokoll nyálhoz

Fontos: Amennyiben ezt a folyamatot egy folyadékkezelőn vagy mágneses feldolgozón automatizálja, kérjük, lépjen kapcsolatba az Omega Bio-tek képviselőjével a készülékre vonatkozó utasítások megszerzése érdekében.

A felhasználó által biztosítandó anyagok és felszerelések:

- Mágneses elválasztó eszköz (javasolt: Alpaqua Magnum™ EX, cikkszám A000380)
- Vortex keverő
- 55 °C létrehozására képes rázó vízfürdő
- 96 lyukú mikrolemez (500 µl) vagy kívánt elúciós lemez
- 2 ml-es 96 lyukú, mély-lyukú lemezek (javasolt: Nunc, cikkszám 278752) vagy egy kívánt lemez, amely kompatibilis a mágneses elválasztó eszközzel
- Többcsatornás pipetták és reagens tartályok
- 100%-os etanol
- 100%-os izopropanol
- Nukleázmentes víz
- Opcionálisan: RNáz A (10 mg/ml)
- Opcionálisan: melegítő blokk, inkubátor vagy 70 °C létrehozására képes vízfürdő

Kezdés előtt:

- Készítse elő az SPM puffert, VHB puffert és HDQ kötőpuffert az 5. oldalon levő Reagens elkészítése c. rész szerint.
- Állítsa a rázó vízfürdőt 55 °C-ra.
- Opcionális: állítsa a vízfürdőt, inkubátort vagy melegítő blokkot 70 °C-ra.

1. Centrifugálja a nyálát tartalmazó csövet 2000g sebességgel 5 percig.
2. Tegyen át 500 µl stabilizált nyálmintát (pl. DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrixa® DNAGard® Saliva) egy 96 lyukú, mély lyukú lemezre (nincs mellékelve).
3. Készítsen egy törzsoldat keveréket AL puffer és proteináz K oldat felhasználásával, kizárólag az alábbi táblázat szerint kivonásra kerülő minták számára:

Összetevő	Kivonási ciklusonkénti mennyiség	96 lyukú lemezenkénti teljes mennyiség
AL puffer	200 µl	21,12 ml*
Proteináz K oldat	20 µl	2,1 ml*

* 10% többlettérfogattal számoltunk a 96 lyukú lemezre vonatkoztatva.

Fontos: Csak annyi AL puffer/proteináz K oldat törzsoldat keveréket készítsen, amennyit az elkészítés után 4 órán belül fel is használ.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

4. Mindegyik mintához adjon hozzá 220 µl AL puffer/proteináz K oldatot. Vortexeléssel keverje 10 percig. A megfelelő keverés életbevágó a jó hozamhoz.

Megjegyzés:

- Az automatizált protokollok esetén a hegykeverés adja a legjobb hozamot és ennek használata javasolt.
- Ha 10 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 2 percenként 30 másodpercig 10 percen át.

5. Inkubálja 55 °C-on, rázó vízfürdőben 10 percig.

Megjegyzés: Ha rázó vízfürdő nem áll rendelkezésre, vortexelje a lemezt 2-3 percenként. Ha DNA Genotek Oragene® csövet használt, és az inkubációs lépést már elvégezte, ugorjon a 6. lépésre.

Opcionális: mindegyik mintához adjon hozzá 5 µl RNáz A-t. Keverje vortexeléssel. Hagyja szobahőmérsékleten 2 percig.

6. Mindegyik mintához adjon hozzá 400 µl HDQ kötőpuffert és 20 µl Mag-Bind® HDQ részecskét. Vortexeléssel keverje 10 percig.

Megjegyzés:

- A HDQ kötőpuffert használat előtt 100%-os izopropanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt. A HDQ kötőpuffer és a Mag-Bind® HDQ részecskék elkészíthetők törzsoldat keverékként. Csak annyit készítsen el, amennyi szükséges a futtatáshoz.
- Ha 10 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 2 percenként 30 másodpercig 10 percen át.

7. Tegye a lemezt egy mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

8. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.

9. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszköztől.

10. Mindegyik mintához adjon hozzá 600 µl VHB puffert.

Megjegyzés: A VHB puffert használat előtt 100%-os etanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

11. Keveréshez vortexelje 15 másodpercig.

Megjegyzés: A jó tisztaság eléréséhez életbevágó a Mag-Bind® HDQ részecskék teljes reszuszpenziója.

12. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

13. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.

14. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszközről.

15. Ismétlje meg a 10.-14. lépéseket egy második VHB puffer lépés keretében.

16. Mindegyik mintához adjon hozzá 600 µl SPM puffert.

Megjegyzés: Az SPM puffert használat előtt 100%-os etanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt.

17. Keveréshez vortexelje 15 másodpercig.

18. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

19. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

20. Válassza ki az egyiket az alábbi etanol-eltávolítási lépések közül:

- A. Hagyja a lemezt a mágneses elválasztó eszközön. Adjon hozzá 500 µl nukleázmentes vizet (nincs mellékelve), hagyja a mágneset bekapcsolva 20-30 másodpercig, majd aspirálja. Ne hagyja a nukleázmentes vizet a Mag-Bind® HDQ részecskéken több mint 60 másodpercig. Folytassa a 21. lépéssel.

VAGY

- B. Hagyja a lemezt a mágneses elválasztó eszközön. Várjon 1 percet. Pipettával távolítsa el a reziduális folyadékot. Szárítsa a Mag-Bind® HDQ részecskéket további 10 percig. Folytassa a 21. lépéssel.

21. Adjon hozzá 100-200 µl elúciós puffert nukleázmentes vizet a DNS Mag-Bind® HDQ részecskékről való eluálása érdekében.

Megjegyzés: Melegítse fel az elúciós puffert vagy nukleázmentes vizet 70 °C-ra a hozam javítása érdekében.

22. Vortexeléssel keverje 5 percig.

Megjegyzés: Ha 5 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 1-2 percenként 15 másodpercig 5 percen át.

23. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

24. Tegye át a tisztított DNS-t tartalmazó felülúszót egy 96 lyukú mikrolemezre (nincs mellékelve). A DNS tárolását -20 °C-on végezze.

Protokoll szájúregi kenetech

Fontos: Amennyiben ezt a folyamatot egy folyadékkezelőn vagy mágneses feldolgozón automatizálja, kérjük, lépjen kapcsolatba az Omega Bio-tek képviselőjével a készülékre vonatkozó utasítások megszerzése érdekében.

A felhasználó által biztosítandó anyagok és felszerelések:

- Mágneses elválasztó eszköz (javasolt: Alpaqua Magnum™ EX, cikkszám A000380)
- Vortex keverő
- Centrifugálja 4000g létrehozására képes billenőkosaras rotorral.
- Centrifuga adapter 96 lyukú lemezekhez
- 55 °C létrehozására képes rázó vízfürdő
- 96 lyukú mikrolemez (500 µl) vagy kívánt elúciós lemez
- 2 ml-es 96 lyukú, mély lyukú lemezek (javasolt: Nunc, cikkszám 278752) vagy a kívánt lemez, amely kompatibilis a mágneses elválasztó eszközzel
- Többcsatornás pipetták és reagens tartályok
- 100%-os etanol
- 100%-os izopropanol
- Opcionálisan: RNáz A (10 mg/ml)
- Opcionálisan: nukleázmentes víz
- Opcionálisan: melegítő blokk, inkubátor vagy 70 °C létrehozására képes vízfürdő

Kezdés előtt:

- Készítse elő az SPM puffert, VHB puffert és HDQ kötőpuffert az 5. oldalon levő Reagensek elkészítése c. rész szerint.
- Állítsa a rázó vízfürdőt 55 °C-ra.
- Opcionális: állítsa a vízfürdőt, inkubátort vagy melegítő blokkot 70° C-ra.

1. Vágja le a szájúregi kefe vagy kenetező fejét, és helyezze az egyes kenetezőket egy 96 lyukú, mély lyukú lemez (nincs mellékelve) egy-egy lyukába.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

2. Készítsen egy törzsoldat keveréket AL puffer, proteináz K oldat és elúciós puffer felhasználásával, kizárólag az alábbi táblázat szerint kivonásra kerülő minták számára:

Összetevő	Kivonási ciklusonkénti mennyiség	96 lyukú lemezenkénti teljes mennyiség
AL puffer	290 µl	30,6 ml*
Proteináz K oldat	20 µl	2,1 ml*
Elúciós puffer	250 µl	26,4 ml

* 10% többlettérfogattal számoltunk egy 96 lyukú lemezre vonatkoztatva.

Fontos: Csak annyi AL puffer/proteináz K oldat/elúciós puffer törzsoldat keveréket készítsen, amennyit az elkészítés után 4 órán belül fel is használ.

3. Mindegyik mintához adjon hozzá 560 µl AL puffer/proteináz K oldat/elúciós puffer törzsoldat keveréket. Vortexelje vagy fel és le pipettázza 20-szor, hogy összekeverje.

Megjegyzés: Az automatizált protokollok esetén a hegykeverés adja a legjobb hozamot és ennek használata javasolt.

4. Inkubálja 55 °C-on, rázó vízfürdőben 10 percig.

Megjegyzés: Ha rázó vízfürdő nem áll rendelkezésre, vortexelje a lemezt 2-3 percenként.

5. Centrifugálja 3000g sebességgel 2 percig.

6. Tegyen át 500 µl lizátumot egy új 96 lyukú, mély lyukú lemezre. A kenetezőket ne tegye át az új lemezre.

Opcionális: mindegyik mintához adjon hozzá 5 µl RNáz A-t. Keverje vortexeléssel. Hagyja szobahőmérsékleten állni 2 percig.

7. Mindegyik mintához adjon hozzá 350 µl HDQ kötőpuffert és 20 µl Mag-Bind® HDQ részecskét. Vortexeléssel keverje 10 percig.

Megjegyzés:

- A HDQ kötőpuffert használat előtt 100%-os izopropanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt. A HDQ kötőpuffer és a Mag-Bind® HDQ részecskék elkészíthetők törzsoldat keverékként. Csak annyit készítsen el, amennyi szükséges a futtatáshoz.
- Ha 10 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 2 percenként 30 másodpercig 10 percen át.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

8. Tegye a lemezt egy mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.
9. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.
10. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszközről.

11. Mindegyik mintához adjon hozzá 600 µl VHB puffert.

Megjegyzés: A VHB puffert használat előtt 100%-os etanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt.

12. Keveréshez vortexelje 15 másodpercig.

Megjegyzés: A jó tisztaság eléréséhez életbevágó a Mag-Bind® HDQ részecskék teljes reszuszpenziója.

13. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.

14. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülúszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.

15. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszközről.

16. Ismétlje meg a 11.-15. lépéseket egy második VHB puffer lépés keretében.

17. Mindegyik mintához adjon hozzá 600 µl SPM puffert.

Megjegyzés: Az SPM puffert használat előtt 100%-os etanollal kell hígítani. Utasításokért lásd az 5. oldalt.

Mag-Bind® vér és szöveti DNS készlet CE IVD

18. Keveréshez vortexelje 15 másodpercig.
19. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.
20. Szívja fel és dobja ki a feltisztult felülűszót. Ne zavarja fel a Mag-Bind® HDQ részecskéket.
21. Hagyja a lemezt a mágneses elválasztó eszközön 10 percig, hogy levegőn megszárita a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Távolítson el minden reziduális folyadékot a lyukakból.

Megjegyzés: Ebben a lépésben minden folyadékot ki kell szívni. Hasznos lehet a teljes folyadékmennyiség lyukból való eltávolítása után várakozni egy perccel, majd eltávolítani minden reziduális folyadékot a lyukból.

22. Vegye le a Mag-Bind® HDQ részecskéket tartalmazó lemezt a mágneses elválasztó eszközről.
23. Adjon hozzá 100-200 µl elúciós puffert vagy nukleázmentes vizet (nincs mellékelve) a DNS Mag-Bind® HDQ részecskékről való eluálása érdekében.

Megjegyzés: Melegítse fel az elúciós puffert vagy nukleázmentes vizet 70 °C-ra a hozam javítása érdekében.


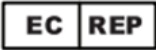

24. Vortexeléssel keverje 5 percig.

Megjegyzés: Ha 5 percen át tartó folyamatos vortexelés nem lehetséges, vortexelje 1-2 percenként 15 másodpercig 5 percen át.

25. Tegye a lemezt a mágneses elválasztó eszközre, hogy mágnesezze a Mag-Bind® HDQ részecskéket. Hagyja szobahőmérsékleten állni, amíg a Mag-Bind® HDQ részecskék teljesen el nem tűnnek az oldatból.
26. Tegye át a tisztított DNS-t tartalmazó felülűszót egy 96 lyukú mikrolemezre (nincs mellékelve). A DNS tárolását -20 °C-on végezze.















Kapcsolatfelvételi információk

Fogyóanyagok utánrendelése, eszköz meghibásodása vagy panasz esetén kérjük, lépjen kapcsolatba az alábbiakkal:

	<p>Gyártó Omega Bio-tek, Inc. 400 Pinnacle Way Suite #450 Norcross, GA 30071, USA Weboldal: www.omegabiotek.com Email: info@omegabiotek.com SRN: US-MF-000024148</p>
	<p>Európai hivatalos képviselő QbD RepS BV Groenenborgerlaan 16 2610 Wilrijk Belgium SRN: BE-AR-000000040</p>
	<p>Svájc meghatalmazott képviselője Qarad Suisse S.A. World Trade Center Avenue Gratta-Paille 2 1018 Lausanne Switzerland CHRN: CHRN-AR-20002058</p>
Egyesült Királyság	<p>Egyesült Királyság meghatalmazott képviselője Qarad UK Ltd 8 Northumberland Ave Westminster, London WC2N 5BY United Kingdom</p>

Szimbólumok

Az alábbi szimbólumok megjelenhetnek a használati utasításban vagy a csomagoláson és címkeszövegben:

Ábra	Leírás
	Sérült csomag (Ne használja, ha a csomag sérült)
	Hivatalos képviselő az Európai Unióban
	Svájc meghatalmazott képviselője
 YYYY-MM	Felhasználható
	Hosszú távú tárolási hőmérséklet-tartomány
	Ellenőrizze az összetevőket a tárolási körülményekért
	Tételszám
	Referencia-, alkatrész- vagy katalógusszám
	Sorozatszám
	Mennyiség
	Vigyázat
	Használati utasítás
	Szabályozási jelzés
	In vitro diagnosztikus orvostechnikai eszköz

Szimbólumok



Egyedi eszközazonosító



Gyártó



Nincsenek további veszélyek, vagy a GHS szerint nem minősül veszélyesnek



Weboldal



Telefon



Fax



E-mail



LinkedIn



Twitter



Facebook

Változtatások listája

Változat	Leírás
v1.2, 2025 Április	Az EU meghatalmazott képviselője nevének és címének módosítása, valamint az Egyesült Királyság képviselőjének adatai hozzáadása
v1.1, 2023 Július	Hozzáadva Svájc hivatalos képviselőjének adatai
v1.0, 2022. december	Eredeti kiadás

Megjegyzések és jogi nyilatkozat

REACH közzététel

Az Európai Unióban való felhasználásra.

Az AL puffer Triton X-100-at, 2-[4-(2,4,4-trimetilpentán-2-yl)fenoxi]etanolt (CAS 9002-93-1) tartalmaz, amely az 1907/2006 REACH szabályozás (EC) Európai engedélyezési listáján (XIV) szerepel. A tudományos kutatás és fejlesztés (SR&D) céljára használt anyagok és keverékek mentesülnek az engedélyezési kritériumok alól, amennyiben évente 1 tonnánál kevesebb mennyiségben használatosak.

A tudományos kutatás és fejlesztés magában foglalja a laboratóriumi szintű kísérleti kutatást vagy analitikus tevékenységeket, például a vegyületek szintézisét és alkalmazási tesztelését, kibocsátási tesztek stb., valamint az anyag használatát monitorozás és rutinszerű minőségellenőrzés vagy in vitro diagnosztika esetén.

Védjegyek és licenck

A Mag-Bind[®], HiBind[®], E.Z.N.A.[®] és MicroElute[®] az Omega Bio-tek, Inc. bejegyzett védjegyei.

A DNA Genotek Oragene[®], a Mawi iSWAB[™], a Biomatrix[®] A DNAGard[®] Saliva a megfelelő vállalatok védjegyei.

A PCR a Hoffman-La Roche szabadalmaztatott eljárása. A PCR eljárás használatához engedélyre van szükség.