

# Uživatelská příručka pro izolační soupravy SaMag

Pro použití s automatickými extrakčními systémy **SaMag-12** a **SaMag-24** od společnosti Sacace Biotechnologies

- **SaMag Blood DNA Extraction Kit (SM001)**



*Sacace Biotechnologies Srl*  
*via Scalabrini, 44 – 22100 – Como – Italy Tel +390314892927 Fax +390314492493*  
*mail: [info@sacace.com](mailto:info@sacace.com) web: [www.sacace.com](http://www.sacace.com)*

# SaMag Blood DNA Extraction Kit

## NÁZEV

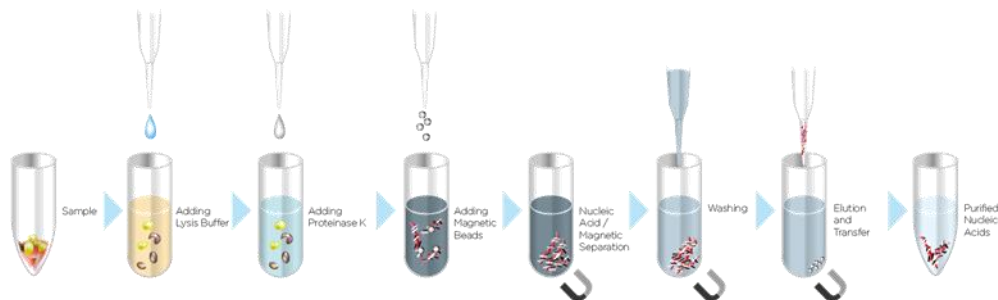
SaMag Blood DNA Extraction Kit

## POUŽITÍ

Souprava SaMag Blood DNA Extraction Kit je navržena pro použití s automatickým izolátorem nukleových kyselin SaMag-12/24 pro extrakci DNA z 100-400 µl savčí plné krve, suspenze savčích krevních buněk.

## PRINCIP TESTU

Proces extrakce se skládá z kroků lyze, navázání nukleové kyseliny, omytí a eluce jak je znázorněno na obrázku níže.



Připravené nukleové kyseliny jsou vhodné pro aplikace, jako je qPCR, sekvenování (NGS), microarray, RFLP, Southern blot nebo jakékoliv enzymatické manipulace.

## MATERIÁL POSKYTNUTÝ SE SOUPRAVOU

- Reagenční kazeta (Reagent cartridge), 48 ks (6x8);
- Reakční nádobka (Reagent chamber), 48 ks (2x 6x4);
- Držák na špičku (Tip holder), 48 ks (2x 6x4);
- Špička s filtrem (Filtered tip), 50 ks (50x1);
- Propichovací kolík (Piercing pin), 50 ks (50x1);
- Zkumavka na vzorek (Sample tube; 2 ml), 50 ks (50x1);
- Eluční zkumavka (Elute tube; 1,5 ml), 50 ks (50x1);
- List s čárovými kódy, 1 list;

Obsahuje reagentie pro provedení 48 testů.

## POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ SOUPRAVY

- Izolátor SaMag-12/24 Automatic Nucleic Acids Extraction System (Sacace Biotechnologies, Itálie)
- Jednorázové vyšetřovací rukavice, bezpudrové
- Mikropipety
- Biohazardní box

## OMEZENÍ POUŽITÍ PRODUKTU

Všechna činidla mohou být používána výlučně v diagnostice in vitro. Použití tohoto přípravku by mělo být omezeno na personál vyškolený v technikách amplifikace DNA. Pro dosažení optimálních výsledků je třeba přísně dodržovat pokyny v uživatelské příručce. Pozornost by měla být věnována datům expirace uvedených na balení a označování všech komponent. Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby použitelnosti.

## OBSAH REAGENČNÍ KAZETY



well-1	Roztok proteinázy K	40 µl
well-2	Lyzační pufr 2	1000 µl
well-3	Vazebný pufr 1	600 µl
well-4	Roztok s magnetickými kuličkami	800 µl
well-5	Promývací pufr 1	1000 µl
well-6	Promývací pufr 2	1000 µl
well-7	Promývací pufr 3	1000 µl
well-8	Eluční pufr 1	1000 µl
well-9	Eluční pufr 2	1000 µl
well-10	Prázdná pozice	

## SKLADOVÁNÍ

Souprava SaMag Blood DNA Extraction Kit by měla být skladována při pokojové teplotě (+15-25°C). Reagenční kazety chraňte před mrazem. Za dodržení těchto podmínek vydrží tyto soupravy být stabilní po dobu 12 měsíců.

Před provedením navazujících analýz skladujte vyizolovanou DNA při teplotě +4°C (krátkodobě), nebo v alikvótách a skladujte při teplotě -70°C (dlouhodobě).

## UPOZORNĚNÍ A OPATŘENÍ

- Při manipulaci se vzorky a činidly používejte rukavice na jedno použití, pracovní oděv a ochranu očí. Po práci si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy.
- Nejezte, nepijte, nekuřte, nepoužívejte kosmetiku, nebo nemanipulujte s kontaktními čočkami v laboratorních prostorách.
- Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby použitelnosti.
- Zlikvidujte všechny vzorky a nevyužitá činidla v souladu s místními předpisy.
- Vzorky by měly být považovány za potenciálně infekční a mělo by s nimi být pracováno v biohazard boxu v souladu s biologickou bezpečností úrovně 2 nebo podle jiných vhodných bezpečnostních postupů.
- Všechny vylité části vzorků nebo činidel ihned vyčistěte za použití dezinfekčního prostředku, jako je např. 0,5% chlornan sodný, nebo jiným vhodným dezinfekčním prostředkem.
- Vyhněte se kontaktu vzorků a činidel s pokožkou, očima a sliznicemi. Pokud tyto roztoky přijdou do kontaktu s těmito částmi těla, okamžitě vypláchněte vodou a ihned vyhledejte lékařskou pomoc.
- Bezpečnostní listy (MSDS) jsou k dispozici na vyžádání.
- Použití tohoto výrobku by mělo být omezeno na pracovníky vyškolené v technikách amplifikace DNA.
- Workflow v laboratoři musí postupovat jednosměrným způsobem, začátek je v prostoru extrakce a pohybuje se ve směru amplifikace a detekce. Nevracejte vzorky, zařízení a chemikálie do oblasti, kde jste provedli předchozí krok.

## VSTUPNÍ MATERIÁL

<b>Typ vzorku</b>	Plná krev, buffy coat, zakoncentrované leukocyty*
<b>Cílová nukleová kyselina</b>	Totální DNA (Genomová DNA, mitochondriální a/nebo virová DNA)**
<b>Objem vzorku</b>	100-400 µl plná krev ( <b>WBC počet menší než <math>2 \times 10^4</math> buněk/µl</b> ); 100-400 µl zkoncentrované leukocyty ( <b>nepřesahující více než <math>5 \times 10^6</math> buněk</b> ); 100-400 µl buffy coat**

### POZNÁMKA:

\* U vzorků, které mají nízký počet leukocytů (méně než  $1 \times 10^3$  buněk/µl), zakoncentrujte krevní buňky centrifugací při 3000 otáčkách za minutu po dobu 15 minut při +4°C, tím získáte doporučenou koncentraci leukocytů pro extrakci DNA.

\*\* Pokud je WBCs číslo vzorku krve vyšší než  $2 \times 10^4$  buněk/µl, doporučujeme naředit vzorek krve s pufrům PBS (např. celý vzorek krve z lymfy myelomu pacienta nebo jiné na granulocyty bohaté vzorky krve/buffy coat)

**Kontroly/Volitelná interní kontrola\*** Přidejte kontroly / interní kontrolu do extrakčního procesu pokud to vyžadují další následné analýzy.

**Eluční objem** 100-300 µl

- Je-li objem vzorku je menší, přidejte odpovídající množství pufru PBS;
- Souprava SAMAG Blood DNA Extraction Kit funguje s čerstvými nebo zmraženými vzorky krve odebranými do zkumavek, které obsahují běžné anti-koagulanty, jako je EDTA, heparin\* a citrát (\*doporučujeme použít EDTA jako antikoagulační činidlo, protože heparin má inhibiční účinky na amplifikační reakce nukleových kyselin);
- Doporučujeme použít vzorek čerstvé plné krve (do 1 týdne) pro extrakci, celkový výtěžek nukleových kyselin a jejich kvalita se snižují s časem;
- V případě, že vzorek plné krve je bohatý na granulocyty (počet bílých krvinek vyšší než  $2 \times 10^5$  buněk/µl.), doporučujeme zředit vzorek krve;
- Pro krátkodobé skladování (až 10 dní) skladujte zkumavky při teplotě +2-8°C. Nicméně, pro aplikace vyžadující maximální velikost fragmentů, jako je Southern blotting, skladujte vyizolované DNA při teplotě +2-8°C po dobu max. 3 dnů, protože může docházet k nízké úrovni degradace DNA po uplynutí této doby;
- V případě dlouhodobého skladování skladujte vzorky při -70°C. Extrahovaný produkt obsahuje celkové nukleové kyseliny (DNA i RNA), RNA není hlavním produktem této soupravy (asi 10%), a je brzy degradována. Je-li zapotřebí produkt bez RNA, přidejte k elutau RNázu.

## PROTOKOL

Pro provedení extrakce v přístroji SaMag-12/24, otevřete dvířka a postupujte podle kroků uvedených v uživatelském manuálu v kapitole 2.3 "Extrakce".

1. Vložte Kazetu(y)
2. **Vložte Reakční nádobku(y)\***
3. Vložte Držák špiček
4. Vložte Propichovací kolík(y)
5. Vložte Špičku(y) s filtrem
6. Vložte Zkumavku(y) se vzorkem do stojánku pro vzorky
7. Vložte 1,5 ml Eluční zkumavku(y) do stojánku pro vzorky s otevřeným víčkem
8. V biohazardním boxu přeneste vzorky do zkumavek pro vzorky
9. Pokud je součástí amplifikačního kitu Interní kontrola, přidejte ji.
10. Přeneste stojánek se vzorky do přístroje SaMag
11. Zavřete dvířka SaMag-12/24
12. Použijte čárový kód pro výběr protokolu soupravy Blood DNA Extraction kit, požadovaný počáteční objem, eluční objem (navrhované hodnoty jsou 400 µl pro vstupní objem, 100 µl pro eluční objem).

DNA extrahovaná pomocí soupravy SaMag Blood DNA Extraction Kit je stabilní po dobu až jednoho roku při skladování při teplotě -20°C, skladujte při teplotě -70°C nebo nižší při dlouhodobém skladování.

**\* NIKDY NEZAPOMEŇTE VLOŽIT REAKČNÍ NÁDOBKY PRO VŠECHNY VZORKY, JINAK MŮŽE DOJÍT K VYLITÍ PUFRŮ A POŠKOZENÍ PŘÍSTROJE, V TAKOVÉM PŘÍPADĚ SACACE BIOTECHNOLOGIES NENESE ŽÁDNOU ZODPOVĚDNOST.**