

Uživatelská příručka pro izolační soupravy SaMag

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

- **SaMag Viral Nucleic Acid Extraction Kit (SM003)**



Sacace Biotechnologies Srl
via Scalabrini, 44 – 22100 – Como – Italy Tel +390314892927 Fax +390314492493
mail: info@sacace.com web: www.sacace.com

SaMag Viral Nucleic Acids Extraction Kit

NÁZEV

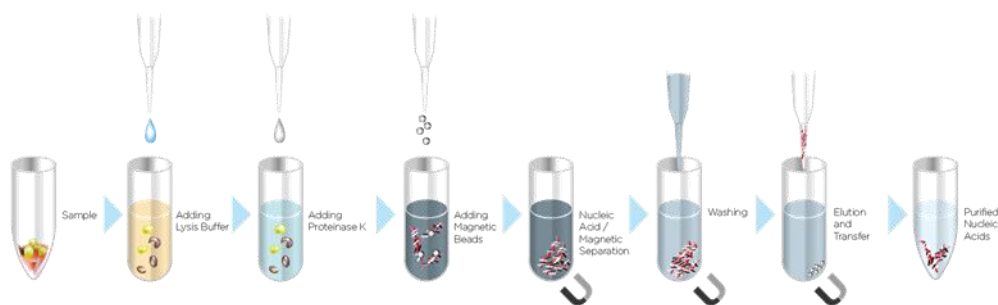
SaMag Viral Nucleic Acids Extraction Kit

POUŽITÍ

SaMag Viral Nucleic Acids Extraction Kit je určen pro použití se SAMAG-12/24 automatickým extraktorem nukleových kyselin pro extrakci virové DNA nebo RNA z lidských vzorků jako je sérum, plazma a jiné tělní tekutiny.

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 POSKYTOVANÝ SE SOUPRAVOU

- Reagenční kazeta (Reagent cartridge), 48 ks (6x8);
- Reakční nádobka (Reaction chamber), 48 ks (2x 6x4);
- Držák na špičku (Tip holder), 48 ks (2x 6x4);
- Špička s filtrem (Filtered tip), 50 ks (50x1);
- Malá špička (Small 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);
- RNA carrier (1mg), 1ks;
- 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 Systém (Sacace Biotechnologies, Itálie)
- Sterilní voda bez RNáz pro rozpuštění RNA carrier
- 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	30 µl
well-2	Lyzační pufr 1	720 µl
well-3	Vazebný pufr 1	1000 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	Voda bez RNáz	1000 µl
well-9	Voda bez RNáz	1000 µl
well-10	Prázdna pozice	

SKLADOVÁNÍ

Souprava SaMag Viral Nucleic Acid 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.

Po rozpuštění carrier RNA skladujte tento roztok při 4°C (krátkodobé skladování) nebo -20°C (dlouhodobé skladování). Opakovaně nerozmrazujte a zamražujte carrier RNA (maximálně 3x). Při dlouhodobém skladování v -20°C doporučujeme roztok rozaliquvovat.

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

Souprava je určena pro extrakci virových nukleových kyselin (např. HIV, HCV, HBV, nebo CMV) z plazmy nebo séra, nebo z bezbuněčných tělních tekutin.

Po extrakci skladujte nukleové kyseliny při teplotě 4°C (do 24 hodin) nebo při -20°C po dobu delšího skladování. Opakované zmrazování a rozmrazování není povoleno.

ODBĚR BIOLOGICKÝCH VZORKŮ A SKLADOVÁNÍ

Mohou být zpracovány všechny druhy biologických tekutin nebo polotekutých vzorků např. sérum, moč nebo bronchoalveolární laváže (BAL). Pro úspěšnou extrakci nukleových kyselin je důležité získat homogenní, čirý a neviskózní vzorek před vložením do Samag zkumavek pro vzorky. Zkontrolujte proto všechny vzorky (zejména staré nebo zamražené) na přítomnost sraženin.

Postup extrakce je optimalizován pro použití s 100- 400 µl séra, plazmy, mozkomíšního moku, nebo vzorků moči (krevní vzorky ošetřené EDTA nebo citrátem jako antikoagulant lze použít pro přípravu plazmy). Vzorky mohou být buď čerstvé, nebo zamražené, za předpokladu, že nebyly po rozmrazení znovu zamrazeny.

Po odběru a centrifugaci mohou být plazma, sérum, nebo mozkomíšní mok skladovány při teplotě 2-8°C po dobu až 6 hodin. Při delším skladování doporučujeme zmrazení alikvot při teplotě -20°C nebo -80°C. Rozmrazte vzorky při pokojové teplotě (15-25°C), a zpracovávejte vzorky hned po ustálení na pokojovou teplotu. Alikvoty po rozmrazení znovu nezmrazujte. Opakované zmrazování a rozmrazování vede k denaturaci a srážení bílkovin, což vede ke snížení virových titrů, a snížení výtěžků virových nukleových kyselin. Pokud jsou ve vzorcích viditelné kryoprecipitáty, odstřeďte je při 6800 xg po dobu 3 minut, přepipetujte supernatant do čerstvých zkumavek bez narušení pelety, a okamžitě zahajte proces extrakce.

CARRIER RNA

Doporučujeme přidání Carrier RNA ke vzorkům před zahájením extrakce. Při prvním použití připravte Carrier RNA přidáním 1,1 ml vody bez RNáz do zkumavky popsané jako carrier RNA (je součástí soupravy) a poté zvortexujte. Skladujte připravený roztok Carrier RNA (1 mg / ml) při teplotě -20 °C. Přidejte 5 µl Carrier RNA (pro 100 µl vzorku), 10 µl (pro 200 µl vzorku) nebo 20 µl (pro 400 µl vzorku) do každé zkumavky.

PROTOKOL

Chcete-li provést extrakci, spusťte přístroj SAMAG-12/24, otevřete dvířka a postupujte podle pokynů uvedených v uživatelské příručce SAMAG v kapitole "Extrakce".

1. Vložte Kazetu(y)

2. **Vložte Reakční nádobku(y) ***

3. Vložte Držák špiček

4. Vložte Propichovací kolík(y)

5. Vložte malou špičku(y)

6. Vložte Špičku(y) s filtrem

7. Vložte zkumavky se vzorky do stojánku pro vzorky

8. Vložte 1,5 ml Eluční zkumavku(y) do stojánku pro vzorky s otevřeným víčkem **

9. Napipetujte Carrier RNA do zkumavky pro vzorky

10. V biohazardním boxu přeneste vzorky do zkumavek pro vzorky

11. Pokud je součástí amplifikačního kitu Interní kontrola, přidejte ji.

12. Přeneste stojánek se vzorky do přístroje SaMag

13. Zavřete dvířka SaMag-12/24

14. Použijte čárový kód pro výběr protokolu soupravy Viral Nucleic Acids Extraction kit,

požadovaný počáteční objem, použitou eluční zkumavku, eluční objem (navrhované hodnoty jsou 400 µl pro objem vzorku, 50 µl pro eluční objem).

15. V případě použití SaMag-12 ver. 3.x EVO vyberte pomocí dotykového rozhraní sadu pro extrakci virových nukleových kyselin (kód 2003).

POZNÁMKA: Vyberete-li 1,5 ml eluční zkumavku je nutné použít výchozí stojánek na vzorky a vložení 1,5 ml zkumavek s otevřenými víčky do řady pro eluční zkumavky; vyberete-li 0,2 ml PCR zkumavku jako eluční, je nutné použít PCR stojánek a vložit 0,2 ml PCR zkumavky obsahující lyofilizovaná PCR činidla (např. Sacace HCV Real TM Quant DX) s otevřeným víčkem.

*** 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**

** Pokud jsou použity soupravy Sacace HCV Real-TM Quant DX nebo HBV Real-TM Quant DX využívejte 0,2 ml PCR stojánky a vložte 0,2 ml PCR lyofilizované zkumavky do PCR stojánku s otevřeným víčkem

Virové RNA/DNA izolované s použitím soupravy SaMag Viral Nucleic Acids Extraction Kit je stabilní po dobu jednoho roku, pokud jsou skladovány při -20 °C, pro dlouhodobé skladování uchovávejte vzorky při -70 °C.