

Uživatelská příručka pro izolační soupravy SaMag

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

▪ SaMag FFPE DNA Extraction Kit (SM009) **NEW**

Typ vzorku	Cílová nukleová kyselina	Výchozí objem vzorku	Eluční objem
FFPE (formalin fixed paraffin embedded) vzorky tkání	DNA	200-300 μ l / 1 až 8 řezů silných 10 μ m (po štěpení proteinázou K)*	50-300 μ l
Bioptický materiál		100-400 μ l / 3 až 10 biopsií	

* Poznámka: velikost oblasti tkáně by měla být větší než 1x1 cm², je-li plocha menší použijte pro izolaci více než 1 řez.



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

SaMag FFPE DNA Extraction Kit

NÁZEV

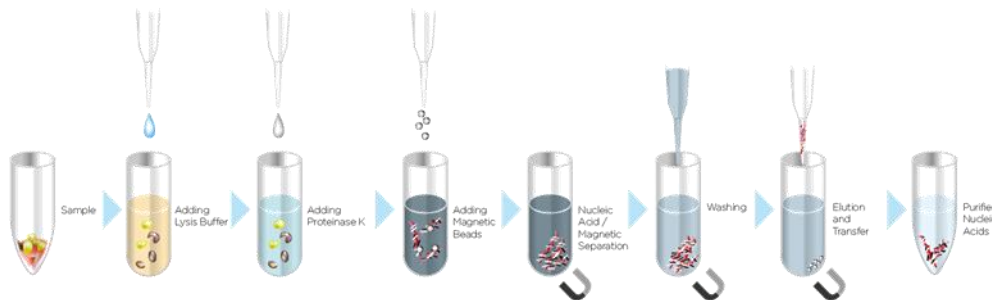
SaMag FFPE DNA Extraction Kit

POUŽITÍ

Souprava SaMag FFPE DNA Extraction Kit je navržena pro použití s automatickým izolátorem nukleových kyselin SaMag-12/24 pro extrakci genomové DNA z FFPE (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded) vzorků tkání. Souprava poskytuje kvalitní DNA s vysokou integritou pro molekulární diagnostiku a výzkumné účely.

PRINCIP TESTU

Proces extrakce se skládá z kroků lýza, navázání nukleové kyseliny, promytí 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);
- Proteináza K (10mg/ml) 1ks x 1,0ml;
- Pufr BL4 (1x25 ml);
- DP pufr (1x15 ml);
- Kolonka s filtrem (Filter column), 50 ks (20x1);
- Sběrná zkumavka (Collection tube), 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 Systém (Sacace Biotechnologies, Itálie)
- Jednorázové vyšetřovací rukavice, bezpudrové
- Mikropipety
- Biohazardní box
- Vodní lázeň s třepáním nebo termomixer

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 Well 2 Well 3 Well 4 Well 5 well 6 Well 7 Well 8 well 9 Well 10

well-1	Prázdna pozice	
well-2	Prázdna pozice	
well-3	Vazebný pufr 2	800 µl
well-4	Roztok s magnetickými kuličkami	800 µl
well-5	Promývací pufr 5	800 µl
well-6	Promývací pufr 2A	800 µl
well-7	Promývací pufr 2A	800 µl
well-8	Eluční pufr 1	800 µl
well-9	Eluční pufr 2	800 µl
well-10	Prázdna pozice	

SKLADOVÁNÍ

Souprava SaMag FFPE DNA Extraction 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

FFPE (formalin fixed Paraffin Embedded) vzorky tkání: 1 až 5 řezů silných 10 µm po štěpení proteinázou K*.

*Poznámka: Velikost oblastí tkáně by měla být větší než 1 x 1 cm², pokud je velikost menší, použijte pro extrakci víc sekcí.

SBĚR VZORKŮ A KONZERVACE

Příprava vzorku je vysoce závislá na typu výchozího materiálu. Vzhledem k rozdílům v konzistenci a viskozitě, mohou i podobné druhy vzorků vyžadovat odlišné zacházení. Následující kroky popisují některá doporučení pro zpracování primárních vzorků.

DNA vzorku FFPE tkáně je často roztržštěná, to občas způsobuje problémy v molekulárních testech. Udržování integrity DNA je nejdůležitější věcí v celém procesu.

PŘÍPRAVA VZORKU (PŘEDBĚŽNÁ ÚPRAVA)

1. Přenos řezů	Přeneste 5-10 µm řezy parafinem fixované tkáně do 1,5/2 ml Mikrocentrifugační zkumavky
2. Odstranění parafinu	Přidejte 200 µl DP pufru do microcentrifugační zkumavky a energicky míchejte 10 vteřin
3. Inkubace I.	Inkubujte 3 minuty při 56°C a poté nechte vychladnout na pokojovou teplotu
4. BL4 pufr	Přidejte 220 µl BL4 pufru a promíchejte vortexováním
5. Centrifugace	Centrifugujte 1 minutu při otáčkách 11.000g
6. Proteináza K	Přidejte 20 µl proteinázy K přímo do spodní modré fáze a jemně promíchejte
7. Inkubace II.	Inkubujte 2 hodiny při teplotě 56°C (nebo dokud nebude vzorek zcela zlyzován)
8. Inkubace III.	Inkubujte 1 hodinu při teplotě 90°C
9. Přenos do kolonky	Přeneste 200 µl spodní modré vrstvy do kolonky s filtrem ve sběrné zkumavce. Centrifugujte 1 minutu při otáčkách 6000 xg.
10. Přenos a start	Přeneste 200 µl vzorku do zkumavky pro vzorek a začněte izolaci na přístroji SaMag.

PROTOKOL

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

1. Vložte Kazetu(y)
 2. **Vložte Reakční nádobku (y) ***
 3. Vložte Držák(y) špiček
 4. Vložte Propichovací kolík(y)
 5. Vložte Špičku(y) s filtrem
 6. Vložte Zkumavku(y) se vzorkem do stojánu pro vzorky
 7. Vložte 1,5 ml Eluční zkumavku(y) do stojánu 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 FFPE DNA Extraction kit, požadovaný počáteční objem, eluční objem (navrhované hodnoty jsou 400 µl pro vstupní objem, 50 µl pro eluční objem)
- 12 b. V případě použití SaMag-12 ver. 3.x EVO vyberte pomocí rozhraní dotykové obrazovky sadu pro extrakci DNA FFPE (kód 2009).**

POZNÁMKA: V případě použití SaMag-12 ver. 3.x EVO vyberte v rozhraní dotykové obrazovky typ stojanu 2 ml.

DNA extrahovaná se soupravou SaMag FFPE DNA Extraction Kit je stabilní po dobu až jednoho roku při skladování při teplotě -20°C, pro dlouhodobé uchování skladujte při teplotě -70°C nebo nižší.

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