

RevoDx

Набір для
виділення ДНК із
бактеріальних культур

RevoDx DNA Purification Kit from Bacteria

Інструкція з використання

Для очищення ДНК бактерій із твердих та рідких культуральних середовищ та цільної крові
Для діагностики *in vitro*
Тільки для професійного використання

Каталожні номери:
IP201917-50 – 50 тестів
IP201917-100 – 100 тестів



Склад набору

	Компонент	50 тестів	100 тестів
1	Буфер для лізису бактерій (Bacteria Lysis Buffer)	11 мл	22 мл
2	Буфер для лізису (Lysis Buffer)	11 мл	22 мл
3	Буфер для промивання 1 (Wash Buffer 1)	14 мл	28 мл
4	Буфер для промивання 2 (Wash Buffer 2)	21 мл	42 мл
5	Буфер для елюції (Elution Buffer)	10 мл	20 мл
6	Протеїназа К (Proteinase K)	1 пробірка	2 пробірки
7	Спін-колонки з пробірками для збору	50 штук	100 штук
8	Пробірки для збору 2 мл	150 штук	300 штук
9	Пробірки для елюції 1,5 мл	50 штук	100 штук
10	Інструкція з використання (Product Manual)	1	1

Транспортування, зберігання та стабільність

Набори можна транспортувати за температури навколишнього середовища. Після отримання пробірки з протеїназою К зберігати при температурі від +2°C до +8°C. Інші компоненти набору слід зберігати щільно закритими при кімнатній температурі (від 15°C до 25°C). За умови належного зберігання всі компоненти набору залишаються стабільними до закінчення терміну придатності, який зазначений на етикетці продукту.

Передбачене використання

Набір RevoDx DNA Purification Kit from Bacteria призначений для очищення ДНК бактерій із рідких та твердих культуральних середовищ та цільної крові. Очищена ДНК придатна для подальших досліджень методами ПЛР, РЧ-ПЛР, клонування, RFLP-аналіз і секвенування. Будь-які діагностичні результати, отримані у зв'язку з будь-яким подальшим діагностичним аналізом з використанням цього набору, слід інтерпретувати згідно з усіма відповідними клінічними та лабораторними даними.

Загальний опис

Екстракція нуклеїнових кислот відіграє важливу роль в молекулярній діагностиці як первинний етап для багатьох подальших досліджень. Очікується, що високоякісний екстракт нуклеїнової кислоти не містить інгібіторів ампліфікації та інших речовин, які можуть впливати на роботу ферментів.

Набір RevoDx DNA Purification Kit from Bacteria передбачає

використання спеціальних буферів для лізису в поєднанні з спін-колонками на основі діоксиду-кремнію для ефективного очищення ДНК з біологічних зразків. Зразки лізують в оптимізованих буферах, що містять хаотропні солі. Буфер для зв'язування забезпечує селективне зв'язування ДНК з кремнієвою матрицею. Домішки, такі як білки, солі та залишки клітин, видаляються під час наступних етапів промивання та центрифугування. Нарешті, високоочищені нуклеїнові кислоти вивільняються у розчин за допомогою буфера з низькою іонною силою. Очищену ДНК можна використовувати безпосередньо в подальших застосуваннях для діагностичних аналізів *in vitro*. Тривалість процедури виділення складає від 90 хв.

Обмеження щодо використання продукту

- Набір RevoDx DNA Purification Kit from Bacteria можна використовувати для діагностики *in vitro*.
- Будь-які діагностичні результати, отримані у зв'язку з будь-яким подальшим діагностичним аналізом з використанням цього набору, слід інтерпретувати згідно з усіма відповідними клінічними та лабораторними даними.
- Цей набір валідований для використання зі зразками рідких та твердих культуральних середовищ та цільною кров'ю. Тестування з іншими типами зразків може призвести до неточних результатів.
- Надійні результати залежать від правильного збору, транспортування, зберігання та методів обробки зразків.
- Набір повинен використовуватися тільки професійним персоналом, який пройшов підготовку з молекулярно-біологічних методів.
- Дотримуйтесь вказівок, наведених в інструкції до набору, для отримання оптимальних результатів виділення.
- Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності. Компоненти набору з різних партій не можна змішувати.

Інформація щодо безпеки

- Клінічні зразки слід розглядати як потенційно інфекційні; з ними слід працювати в зоні біобезпеки 1-го або 2-го рівня, залежно від збудника інфекції.
- Усі отримані відходи слід вважати потенційно інфекційними. З ними слід поводитись та утилізувати відповідно до місцевих правил безпеки.
- Уникайте будь-якого контакту шкіри з реагентами набору. У випадку контакту ретельно промити водою.
- Уникайте розбризкування та утворення аерозолів.
- Після роботи із клінічними зразками та реагентами необхідно мити руки.
- Інформацію стосовно хімічного складу та безпечності реагентів тощо (MSDS information) можна отримати від виробника чи його представника за запитом.
- При роботі в лабораторії використовувати засоби індивідуального захисту
- На початку та в кінці роботи дезінфікуйте усі робочі поверхні знезаражувальними розчинами.
- Переконайтесь, що усі розхідні матеріали мають маркування DNase/RNase-free.
- Поводьтесь з усіма матеріалами відповідно до правил роботи в лабораторіях, що проводять дослідження молекулярно-генетичними методами для запобігання перехресній контамінації.
- Використовуйте тільки перевірені/калібровані дозатори та наконечники з аерозольним фільтром.
- Одразу після використання слід щільно закривати кришки флаконів для перешкоджання протікання і зміні концентрації реагентів.
- Зберігайте набір якомога далі від джерел забруднення нуклеїновими кислотами, особливо продуктами ампліфікації.
- Усі маніпуляції варто проводити в окремих зонах (екстракція нуклеїнових кислот, приготування реакційних сумішей, ампліфікація).
- Усе обладнання та витратні матеріали для конкретної операції повинні знаходитися в зоні, де виконується ця операція, і не повинні переміщатися між різними зонами. Рукавички слід змінювати при переході у кожную зону. Лабораторні халати повинні бути окремими для кожної зони і їх не можна носити за межами цієї зони.
- Роботи повинні виконуватись в одному напрямку, починаючи із зони екстракції ДНК/РНК і закінчуючи відповідними зонами використання.

Додаткове обладнання та матеріали

- Етанол 96-100% (для молекулярно-біологічних досліджень),
- Рибонуклеаза А (опціонально),
- Термошейкер або твердотільний термостат (56°C - 95°C),
- Вихровий змішувач (вортекс),
- Настільна мікроцентрифуга для пробірок 2,0 мл (≥ 16 000 x g),
- Відповідні засоби індивідуального захисту (захисний халат, одноразові рукавички, захисні окуляри),
- Мікропіпетки (дозатори) (0,5 мкл – 1000 мкл),
- Наконечники для дозаторів з аерозольним фільтром, вільні від ДНКаз та РНКаз (з маркуванням DNase/RNase-free),
- Мікропробірки 1,5/2 мл, вільні від ДНКаз/РНКаз.

Поводження зі зразками

Цей набір валідований для виділення ДНК бактерій зі зразків рідких та твердих культуральних середовищ та з цільної крові. З клінічними зразками слід поводитися як з потенційно інфекційними; під час відбору та обробки зразків рекомендується дотримуватися запобіжних заходів безпеки. Клініцисти (в тому числі фельдшери, медсестри, лікарі та фахівці, пов'язані з медициною) несуть відповідальність за дотримання правильної процедури під час відбору та безпечного транспортування зразків до лабораторії. Достовірність результатів тестування значною мірою залежить від належної практики на преаналітичному етапі, що також передбачає точне і повне документування. Транспортування біологічних зразків повинно відповідати національним або місцевим правилам. Слід уникати повторних циклів заморожування/розморожування зразків.

Зауваження перед використанням

Перед кожним використанням перевіряйте всі розчини з набору на наявність осаду. При виявленні осаду розчиніть його шляхом прогрівання до температури 37°C, а потім дайте охолонути до кімнатної температури. Заморожені зразки прогрійте при 37°C, та дайте охолонути до кімнатної температури. Уникайте багаторазових циклів заморожування/розморожування зразків. Всі етапи центрифугування слід виконувати при кімнатній температурі. Якщо після центрифугування в колонці все ще залишається рідина, потрібно додатково центрифугувати колонку 1-2 хв до повного проходження рідини через колонку. Перед першим використанням додайте вказаний об'єм етанолу (96-100%) до концентрованого буфера для промивання 1 і концентрованого буфера для промивання 2, як зазначено в таблиці нижче. Пляшки з розчином слід щільно закривати між використанням, щоб запобігти випаровуванню. На етикетці пляшок слід зазначити, що в них додано етанол.

	50 тестів	100 тестів
Буфер для промивання 1	додати 14 мл 96-100% етанолу (Molecular biology grade)	додати 28 мл 96-100% етанолу (Molecular biology grade)
Буфер для промивання 2	додати 7 мл 96-100% етанолу (Molecular biology grade)	додати 14 мл 96-100% етанолу (Molecular biology grade)

Примітка: етанол в чистоті вигляді також використовується при виділенні цим набором, див. пункт 5 нижче.

Процедура

Примітка: В останніх кроках буфер для елюції буде потрібен прогрітим до 70 °C. Можна поставити його прогріватись на початку роботи.

1.
- а) 3 рідкого культурального середовища:

✓ Центрифугуйте 1,5 мл нічної бактеріальної культури при 6000 g протягом 5 хвилин.

✓Видаліть надосадову рідину (супернатант).

✓Додайте 200 мкл буфера для лізису бактерій.

✓ Ресуспендуйте осад за допомогою вортексування.

б) 3 твердого культурального середовища:

- ✓Підготуйте необхідну кількість пробірок 2 мл та внесіть в них по 200 мкл буфера для лізису бактерій.
- ✓Візьміть колонію бактерій з чашки Петрі та перенесіть її у підготовлені пробірки.
- ✓Перемішайте піпетуванням чи ресуспендуйте за допомогою вортексування.

с) 3 цільної крові:

- ✓ Центрифугуйте 200 мкл цільної крові при 6000 g протягом 5 хвилин.
- ✓Видаліть надосадову рідину (супернатант).
- ✓Додайте 200 мкл буфера для лізису бактерій.
- ✓ Ресуспендуйте осад за допомогою вортексування

2.
- Помістіть пробірки в термошейкер та інкубуйте при 100°C, з безперервним перемішуванням протягом 10 хв. Якщо термошейкер недоступний, інкубуйте пробірки в твердотільному термостаті, перемішуючи кожні 2-3 хвилини.

Опціонально: якщо потрібен препарат ДНК без домішок РНК, додайте 10 мкл РНКази А (20 мкг/мл) та перемішайте переривчастим вортексуванням, потім центрифугуйте для осадження крапель та інкубуйте 3 хв при кімнатній температурі (15-20 °C), після чого можна переходити до кроку 3.
3.
- Осадіть краплі короточасним центрифугуванням, додайте 20 мкл протеїнази К (Proteinase K) та 200 мкл буфера для лізису (Lysis Buffer), перемішайте (імпульсним вортексуванням тощо).
4.
- Помістіть пробірки в термошейкер та інкубуйте при 65°C, з безперервним перемішуванням протягом 10 хв. Якщо термошейкер недоступний, інкубуйте пробірки в твердотільному термостаті при 65°C протягом 15 хвилин, перемішуючи кожні 2-3 хвилини.
5.
- Осадіть краплі короточасним центрифугуванням, додайте 250 мкл етанолу, перемішайте (імпульсним вортексуванням тощо). Інкубуйте при кімнатній температурі протягом 1 хв.
6.
- Знову осадіть краплі центрифугуванням. Перенесіть лізат до відповідно промаркованих спін-колонок, вставлених у пробірки для збору.
7.
- Центрифугувати при 6,000 x g протягом 1 хвилини. Перенести спін-колоники в нові пробірки для збору, попередні викинути.
8.
- Додати у кожную колонку по 500 мкл Буфера для промивання 1 (Wash Buffer 1). Центрифугувати при 6,000 x g протягом 1 хвилини. Перенести спін-колоники в нові пробірки для збору, попередні викинути.
9.
- Додати у кожную колонку по 500 мкл Буфера для промивання 2 (Wash Buffer 2). Центрифугувати при 16,000 x g протягом 1 хвилини. Перенести спін-колоники в нові пробірки для збору, попередні викинути.
10.
- Закрити кришки спін-колонок, центрифугувати при 16,000 x g протягом 3 хвилин. Перенести спін-колоники в пробірки для зберігання елюату (1,5-2 мл), попередні пробірки для збору викинути.
11.
- Внести по 100 мкл Буфера для елюції (Elution Buffer), попередньо нагрітого до 70 °C, в центр кожної спін-колоники, закрити кришки та інкубувати 3 хв при кімнатній температурі.
12.
- Центрифугувати при 6,000 g протягом 1 хвилини, потім додатково центрифугувати при 16,000 g ще 30 секунд.
13.
- Вийняти спін-колоники з пробірок та викинути колонки. Пробірки містять елюат з очищеною ДНК. Виділену ДНК використати незабаром після виділення, для довгострокового зберігання помістити її в морозильну камеру з температурами -20°C або -70°C.
- 

İDİL BIOTECH ARAŞTIRMA SAN. VE TİC. LTD. ŞTİ.
Barış SB Mah. 5003 Sk Kadir Has Binası Kısım
A No: 2 İç Kapı No: Z14 Gebze-Kocaeli-TURKEY

Телефон: +90 262 644 1614
e-mail: info@idilbiotech.com
http://www.idilbiotech.com/

Док.№ / Ред.№ : KK201917/ 004
Дата випуску / Дата перегляду : 01.04.2020 / 21.01.2021

Можливі проблеми та їх усунення

Проблема	Можливі причини	Рекомендації
Низький вихід нуклеїнових кислот	Випаровування етанолу з буферів для промивання	Флакони з розчинами слід щільно закривати між використаннями, щоб запобігти випаровуванню.
	Неналежне зберігання компонентів набору	Після отримання набору, вийміть пробірки з протеїназою K з упаковки та зберігайте при температурі від +2°C до +8°C. Інші компоненти набору слід зберігати щільно закритими при кімнатній температурі (від 15°C до 25°C).
	Етанол не доданий до промивних буферів	Перед першим використанням додайте вказаний об'єм етанолу (96-100%) до концентрованих буферів для промивання 1 та 2. На етикетці пляшок повинно бути зазначено, що додано етанол
	Неправильне поводження з вихідним матеріалом	Переконайтеся, що всі розхідні матеріали вільні від ДНКаз та РНКаз (DNase/Rnase-free)
	Неправильне поводження з елюатами	Не піддавайте елюати багаторазовим циклам заморожування-розморожування перед наступними аналізами
	Низька якість вихідного матеріалу	Уникайте багаторазового заморожування/розморожування зразків.
	Неправильні умови елюції	Додайте 200 мкл буфера для елюції, попередньо нагрітого до 70°C, у центр спін-колонки, закрийте кришку колонки та інкубуйте при кімнатній температурі протягом 3 хвилин
	Засмічення колонки	Переконайтеся, що осад повністю ресуспендований і не залишився грудок.
	Утворення осаду в розчинах	Перед кожним використанням перевіряйте всі розчини з набору на наявність осаду. Розчиніть будь-який осад, нагріваючи розчин до 37°C, а потім охолодіть до кімнатної температури.
Погані показники при подальшому діагностичному аналізі	Потрапляння етанолу в елюат	Обов'язково видаліть весь залишковий етанол з останнього етапу промивання, оскільки він заважає подальшим аналізам і є сильним інгібітором ПЛР
	Інгібування ПЛР	Зразки плазми або сироватки крові, обробленої гепарином, можуть призвести до інгібування ПЛР
		Тестування з іншими типами зразків може призвести до інгібування ПЛР
	Слабка ампліфікація внутрішнього контролю	Наналежна якість зразка (у випадку екзогенного контролю) або інгібування ПЛР
Перехресна контамінація	Повторне використання наконечників для піпеток	Завжди міняйте наконечники піпеток між перенесеннями рідини (рекомендується використовувати наконечники з аерозольним бар'єром)
	Амплікони	Тримайте набір подалі від будь-яких джерел забруднення нуклеїновими кислотами, особливо від ампліфікованих нуклеїнових кислот
		В ідеалі операції повинні проводитися в трьох окремих зонах (екстракція НК, приготування реакційних сумішей, ампліфікація), щоб запобігти контамінації.

Інформація для замовлення

Назва продукту	Фасування	Кат.№.
RevoDx DNA Purification Kit from Bacteria	50 тестів	IP201917-50
RevoDx DNA Purification Kit from Bacteria Kit	100 тестів	IP201917-100