

RevoDx Набір для виділення ДНК та РНК вірусів на магнітних частинках

RevoDx Magnetic Viral Nucleic Acid Purification Kit

Інструкція з використання

Для виділення нуклеїнових кислот вірусів із заморожених та свіжих плазми/сироватки крові людини та тварин, зібраних з антикоагулянтом ЕДТА, спинномозкової рідини, супернатантів культур клітин, інших рідин тіла, вільних від клітин, мазків

Для діагностики *in vitro*
Тільки для професійного використання



Каталожні номери:
IP201920-50 – 50 тестів
IP201920-100 – 100 тестів

Склад набору

	Назва компонента	50 тестів	100 тестів
1	Буфер для лізису (Lysis Buffer)	11 мл	22 мл
2	Буфер для промивання 1 (Wash Buffer 1)	14 мл	28 мл
3	Буфер для промивання 2 (Wash Buffer 2)	21 мл	42 мл
4	Буфер для елюції (Elution Buffer)	5,5 мл	11 мл
5	РНК-носії (RNA Carrier)	1 пробірка	1 пробірка
6	Протеїназа К (Proteinase K *)	1 пробірка	2 пробірки
7	Магнітні частинки (Magnetic beads)	1 пробірка	2 пробірки
8	Інструкція з використання (Product Manual)	1 шт	1 шт

Транспортування, зберігання та стабільність

Набори можна транспортувати за температури навколишнього середовища. Після отриманні вийміть пробірки з протеїназою К та магнітними частинками з упаковки та зберігайте при температурі від +2°C до +8°C. Пробірки з РНК-носієм зберігайте при температурі від -15°C до -25°C. Інші компоненти набору слід зберігати щільно закритими при кімнатній температурі (від 15°C до 25°C). За умови належного зберігання реагент залишається стабільним до закінчення терміну придатності, який зазначений на етикетці продукту.

Передбачене використання

RevoDx Magnetic Viral Nucleic Acid Purification Kit призначений для швидкого очищення ДНК та РНК вірусів із заморожених та свіжих плазми/сироватки крові людини та тварин, зібраних з антикоагулянтом ЕДТА, спинномозкової рідини (СМР), супернатантів культур клітин, інших рідин тіла, вільних від клітин, мазків для діагностики *in vitro*. Очищена ДНК/РНК придатна для подальших застосувань, таких як ПЛР, РЧ-ПЛР, ЗТ-ПЛР, виявлення та генотипування вірусів, визначення вірусного навантаження тощо. 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 Magnetic Viral Nucleic Acid Purification Kit передбачає використання спеціальних буферів для лізису в поєднанні з магнітними частинками 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 45 хвилин.

Обмеження щодо використання продукту

- RevoDx Набір для виділення ДНК та РНК вірусів на магнітних частинках 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.
- Оскільки цей реагент не валідований для використання з конкретним мікроорганізмом, то користувач несе відповідальність за перевірку можливості використання набору для певного діапазону застосувань.
- Цей набір валідований для використання із замороженими та свіжими плазмою/сироваткою крові людини та тварин, зібраних в антикоагулянті ЕДТА, спинномозковою рідиною (СМР), супернатантами культур клітин, іншими рідинами тіла, вільними від клітин та мазками. 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.
- Для діагностики та моніторингу пацієнта слід використовувати один тип наборів для виділення. Якщо RevoDx Magnetic Viral Nucleic Acid Purification Kit замінює інший набір для виділення, обидва тести слід використовувати паралельно принаймні протягом двох наступних циклів.
- 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 регламентів безпеки.
- Необхідно уникати будь-якого контакту шкіри з реагентами набору. У випадку контакту ретельно промити водою.
- Необхідно уникати розбризкування та утворення аерозолів.
- Після роботи із клінічними зразками та реагентами необхідно мити руки.
- Інформацію стосовно хімічного складу та безпечності реагентів (MSDS information) можна отримати від виробника чи його представника за запитом.
- При роботі в лабораторії необхідно використовувати засоби індивідуального захисту.
- На початку та в кінці роботи необхідно дезінфікувати усі робочі поверхні незаражувальними розчинами.
- Переконайтесь, що всі розхідні матеріали мають маркування DNase/RNase-free.
- Поводьтєся з усіма матеріалами відповідно до правил роботи в лабораторіях, що проводять дослідження молекулярно-генетичними методами, щоб запобігти перехресній контамінації.
- Використовуйте тільки повірені/калібровані дозатори та наконечники з аерозольним фільтром.
- Одразу після використання слід щільно закривати кришки флаконів для перешкоджання протікання і зміні концентрації реагентів.

- Зберігайте набір подалі від джерел забруднення нуклеїновими кислотами, особливо продуктами ампліфікації.
- Усі маніпуляції варто проводити в окремих зонах (екстракція ДНК/РНК, 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 кожну 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),
- 2-пропанол (ізопропанол, для молекулярно-біологічних досліджень),
- Штатив для магнітної сепарації,
- Термошейкер або твердотільний термостат (56°C - 95°C),
- Вихровий змішувач (вортекс),
- Настільна мікроцентрифуга для пробірок 2,0 мл (≥ 10 000 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/РНК вірусів із заморожених та свіжих плазми/сироватки крові людини та тварин, зібраних в антикоагулянті ЕДТА, спинномозкової (цереброспінальної) рідини (СМР), супернатантів культур клітин, інших рідин тіла, вільних від клітин, мазків для діагностики *in vitro*.

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.

Після збору не зберігайте цільну кров при кімнатній температурі довше 4 годин. Центрифугуйте кров і перенесіть сироватку або плазму в кріопробірку з гвинтовою кришкою. Транспортування цільної крові, сироватки або плазми має відповідати державним або місцевим нормам. Зразки сироватки або плазми можна зберігати при 2-8°C протягом 24 годин або заморозити при -70°C або нижче для тривалого зберігання. Необхідно уникати повторних циклів заморожування/розморожування, оскільки це призведе до зниження титру вірусу.

Зразки необхідно перемішати, перевертаючи пробірки або піпетуючи кілька разів, перед перенесенням у пробірку для зразків. При використанні заморожених зразків, потрібно прогріти їх до кімнатної температури перед початком процедури. При наявності осаду, видалити його центрифугуванням протягом 3 хв при 5000 x g.

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.

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 чистому вигляді також використовується при виділенні цим набором, див. пункт 10 нижче.

Процедура

1. Внести по 20 мкл протеїнази К (Proteinase K) та по 200 мкл зразка у промарковані пробірки об'ємом 1,5-2 мл.

Примітка: використовувати наконечники з аерозольним фільтром, пробірки та наконечники мають бути вільними від ДНКаз/РНКаз.

2. Додати по 200 мкл Буфера для лізису (Lysis buffer) та 4 мкл РНК-носія (Carrier RNA) у кожну пробірку зі зразком. Внести внутрішній контроль, якщо його використання передбачено виробником тест-системи ПЛР. Для великої кількості зразків можна приготувати суміш лізуючого буфера та РНК-носія. Кінцеві об'єми компонентів обчислити множенням об'ємів лізуючого буфера та РНК-носія на кількість зразків (у цю ж суміш можна внести внутрішній контроль, порашувавши необхідний об'єм). Для уникнення похибки піпетування рекомендується враховувати один додатковий зразок при обчисленні кількості зразків та об'ємів реагентів. Після приготування суміші лізуючого буфера і РНК-носія, обережно перемішати її (піпетуванням, неінтенсивним вортексуванням, перевертанням флакона із сумішшю). Приготовану суміш використати протягом години. У кожну пробірку зі зразком додати по 200 мкл приготованої суміші.
3. Перемішайте вміст пробірок. Помістіть пробірки в термошейкер та інкубуйте при 56°C, з безперервним перемішуванням протягом 10 хв. Якщо термошейкер недоступний, інкубуйте пробірки в твердотільному термостаті при 56°C протягом 10 хвилин, перемішуючи кожні 2-3 хвилини.
4. Осадить краплі короткочасним центрифугуванням, додайте 250 мкл 2-пропанолу (ізопропанолу) і 20 мкл магнітних частинок (Magnetic beads), перемішайте (імпульсним вортексуванням тощо). Інкубуйте при кімнатній температурі, безперервно перемішуючи протягом 7 хв. Якщо шейкер недоступний, перемішуйте пробірки кожні 2-3 хвилини.
5. Інкубуйте на штативі для магнітної сепарації протягом 5 хвилин і видаліть надосадову рідину.
6. Додайте 500 мкл буфера для промивання 1 (Wash buffer 1) і інкубуйте при кімнатній температурі, перемішуючи протягом 1 хвилини.
7. Інкубуйте на штативі для магнітної сепарації протягом 1 хвилини та видаліть надосадову рідину.
8. Додайте 500 мкл буфера для промивання 2 (Wash buffer 2) та інкубуйте при кімнатній температурі, перемішуючи протягом 1 хвилини.
9. Інкубуйте на штативі для магнітної сепарації протягом 1 хвилини і видаліть надосадову рідину.
10. Додайте 500 мкл 96-100% етанолу та інкубуйте при кімнатній температурі, перемішуючи протягом 1 хвилини.
11. Інкубуйте на штативі для магнітної сепарації протягом 1 хвилини і видаліть надосадову рідину.
12. Видалити залишки спирту підсушуванням. Для цього інкубувати пробірки з відкритими кришками 2-5 хв при 60-65°C.
13. Додайте 100 мкл буфера для елюції (Elution buffer).
14. Помістіть пробірки в термошейкер та інкубуйте при 65°C, безперервно перемішуючи протягом 10 хвилин. Якщо термошейкер недоступний, інкубуйте пробірки в твердотільному термостаті при 65°C протягом 10 хвилин, перемішуючи кожні 2-3 хвилини.
15. Інкубуйте на штативі для магнітної сепарації протягом 1 хвилини і перенесіть елюат у нові пробірки. Використовуйте очищену ДНК/РНК негайно або зберігайте при -20°C або -70°C.

Можливі проблеми та їх усунення

Проблема	Можливі причини	Рекомендації
Низький вихід нуклеїнових кислот	Випарювання 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 К з упаковки та зберігайте при температурі від +2°C до +8°C, а пробірки з РНК-носієм – від -25°C до -15°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.
	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 після 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	Неналежна 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 ДНК/РНК, приготування реакційних сумішей, ампліфікація), щоб запобігти контамінації.

Інформація для замовлення

Назва продукту	Фасування	Кат.№.
RevoDx Magnetic Viral Nucleic Acid Purification Kit	50 тестів	IP201920-50
RevoDx Magnetic Viral Nucleic Acid Purification Kit	100 тестів	IP201920-100