

generi biotech



Návod k použití

viRNAtrap™ Extraction Kit

Katalogová čísla: 3315-100, 3315-500

POPIS A SLOŽENÍ.....	3
Účel použití.....	3
Princip izolačního kitu.....	3
Parametry	3
Složení kitu	3
Další potřebné reagenty a vybavení	4
VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ	4
Skladování a životnost	4
Bezpečnostní opatření.....	4
H věty.....	5
P věty	5
Technická doporučení	5
Opatření k předcházení kontaminace.....	5
Symboly použité na nálepkách.....	6
PRACOVNÍ POSTUP.....	6
Příprava pracovních roztoků pro kit 100 rxn (3315-100)	6
Příprava pracovních roztoků pro kit 500 rxn (3315-500)	6
PROTOKOL PRO MANUÁLNÍ IZOLACI V 96-JAMKOVÉM FORMÁTU	7
IZOLACE VIROVÉ RNA POMOCÍ AUTOMATICKÉHO IZOLÁTORU KINGFISHER FLEX SYSTÉM.....	8
AUTOMATIZACE.....	8

POPIS A SLOŽENÍ

Účel použití

Produkt viRNAtrap™ Extraction Kit umožňuje získat celkovou RNA z biologického materiálu (např. nazofaryngeální, orofaryngeální nebo bukalní stěry) v odběrovém/transportním médiu.

Princip izolačního kitu

Celková RNA je izolována přímo z odběrového a transportního média s použitím magnetických kuliček přítomných v lyzačním pufru. Izolace RNA může být prováděna jak manuálně, tak i automatizovanými metodami. Izolovaná RNA je dále vhodná pro použití při dalších analytických metodách jako je RNA sekvenování, RT-PCR, transkripční profilování, hybridizace atd.

Parametry

Lyzační pufr okamžitě inhibuje aktivitu RNáz a inaktivuje viry a jiná infekční agens. Vazebná kapacita magnetických kuliček je až 10 µg RNA při použití 300 µl viRNAtrap™ Lysis Buffer. Objem eluovaného vzorku je ~50 µl.

Složení kitu

Komponenta	Katalogové číslo	
	3315-100	3315-500
viRNAtrap™ Lysis Buffer	30 ml	150 ml
Wash Buffer 1	12 ml	60 ml
Wash Buffer 2	3 ml	15 ml
Elution Buffer	15 ml	75 ml
Manual_CZ_093_viRNAtrap Extraction	1 ks	1 ks
Manual_EN_093_viRNAtrap Extraction	1 ks	1 ks

Další potřebné reagenty a vybavení

- 100% isopropanol (85 ml na 100 izolací, 425 ml na 500 izolací)
- 96-jamkové destičky (DeepWell) pro lyzační krok o objemu minimálně 0,8 ml a 96-jamkové destičky o objemu minimálně 150 µl pro eluční krok
- nastavitelné automatické pipety (10–1000 µl)
- jednorázové sterilní pipetovací špičky s filtrem
- magnetický stojánek na 96-jamkovou DeepWell destičku
- ochranné pomůcky (laboratorní oděv, ochranné rukavice a brýle)


VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Skladování a životnost

- Veškeré reagenty obsažené v kitu jsou stabilní až do data expirace (viz štítek na krabici) při skladování při laboratorní teplotě.
- Roztok viRNAtrap™ Lysis Buffer s magnetickými kuličkami před použitím vždy řádně promíchejte.

Bezpečnostní opatření

- Před použitím kitu si pozorně přečtěte přiložený manuál. Vždy použijte aktuální verzi manuálu. Ujistěte se, že jste všem informacím uvedeným v manuálu porozuměli.
- POZOR: Roztok viRNAtrap™ Lysis Buffer obsahuje nebezpečnou směs. Tyto roztoky NESMÍ přijít do přímého kontaktu s bělidlem.
- Dodržujte následující pokyny pro bezpečné zacházení (**H a P věty**), které se týkají roztoku viRNAtrap™.

Komponenta	GHS symbol	H věty	P věty
viRNAtrap™ Lysis Buffer	 Varování	302+332, 315, 319	P280, P301 + P330, P304 + P340, P302 + P352, P305 + P351 + P338, P337 + P313, P312

H věty

- H302 + H332: Zdraví škodlivý při požití nebo při vdechování.
- H315: Dráždí kůži.
- H319: Způsobuje vážné podráždění očí.

P věty

- P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
- P301 + P330: PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa.
- P304 + P340: PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání.
- P302 + P352: PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody.
- P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
- P337 + P313: Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření.
- P312: Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.








Technická doporučení

- Dodržujte expirační dobu kitu uvedenou na obalu, nepoužívejte reagentie s prošlou expirační dobou.
- V případě, že je některá z komponent poškozená, nepoužívejte ji/je a neprodleně kontaktujte výrobce. Uchovejte pro případnou reklamaci.
- Používejte kalibrované pipety a přístroje.

Opatření k předcházení kontaminace

- Noste čistý laboratorní plášť a používejte ochranné rukavice.
- Vyměňujte si rukavice, kdykoli máte podezření, že jsou kontaminovány.
- Používejte automatické pipety a špičky s filtrem.
- Provádějte pravidelnou dekontaminaci pracovních ploch, pomůcek a přístrojů.
- Doporučujeme zařadit negativní kontrolu do každé série izolací.

Symbole použité na nálepkách

	Číslo šarže
	Datum expirace
	Výrobce
	Obsahuje
	Skladování při doporučené teplotě
	Katalogové číslo
	In vitro diagnostický prostředek

PRACOVNÍ POSTUP

Příprava pracovních roztoků pro kit 100 rxn (3315-100)

Před zahájením práce s izolačním kitem je nutné si připravit následující reagentie:

- **Wash Buffer 1:** Před prvním použitím přidejte do Wash Buffer 1 (koncentrátu) 18 ml čistého isopropanolu. Připravený roztok promíchejte a na lahvičce označte, že byl přidán isopropanol.
- **Wash buffer 2:** Před prvním použitím přidejte do Wash Buffer 2 (koncentrátu) 27 ml čistého isopropanolu. Připravený roztok promíchejte a na lahvičce označte, že byl přidán isopropanol.

Příprava pracovních roztoků pro kit 500 rxn (3315-500)

Před zahájením práce s izolačním kitem je nutné si připravit následující reagentie:

- **Wash Buffer 1:** Před prvním použitím přidejte do Wash Buffer 1 (koncentrátu) 90 ml čistého isopropanolu. Připravený roztok promíchejte a na lahvičce označte, že byl přidán isopropanol.
- **Wash buffer 2:** Před prvním použitím přidejte do Wash Buffer 2 (koncentrátu) 135 ml čistého isopropanolu. Připravený roztok promíchejte a na lahvičce označte, že byl přidán isopropanol.

Roztoky jsou stabilní minimálně 1 rok při laboratorní teplotě.

PROTOKOL PRO MANUÁLNÍ IZOLACI V 96-JAMKOVÉM FORMÁTU

1. Přepipetujte 100 µl transportního média se vzorkem do jedné jamky v DeepWell destičce.
Poznámka: V případě použití externí pozitivní kontroly ji přidávejte v objemu uvedeném v manuálu PCR kitu.
2. Přidejte 300 µl roztoku viRNAtrap™ Lysis Buffer.
Upozornění: roztok viRNAtrap™ Lysis Buffer je nutné vždy důkladně protřepat.
3. Přidejte 400 µl čistého isopropanolu a dobře promíchejte propipetováním.
4. Inkubujte 3 minuty při pokojové teplotě.
5. Destičku přeneste na magnetický stojánek a počkejte, až se roztok vyčeří (asi 2 minuty).
6. Odpipetujte supernatant.
7. Destičku ponechte na magnetickém stojánku a přidejte 250 µl Wash Buffer 1.
8. Nechte působit 20 s a poté odpipetujte.
9. Přidejte 250 µl Wash Buffer 2, nechte působit 20 s a poté odpipetujte.
10. Ujistěte se, že byla veškerá tekutina z jamek odpipetována, případně ji dodatečně odsajte.
11. Nechte kuličky oschnout (2 minuty).
12. Destičku sundejte z magnetického stojánku, přidejte 50 µl Elution Buffer a důkladně propipetujte.
13. Inkubujte 2 minuty, poté destičku přeneste zpět na magnetický stojánek a počkejte, až se roztok vyčeří (asi 2 minuty).
14. Supernatant obsahující RNA přeneste do připravené eluční destičky.

Získanou RNA je možné okamžitě použít nebo ji uschovat pro další použití při teplotě -70 °C.

IZOLACE VIROVÉ RNA POMOCÍ AUTOMATICKÉHO IZOLÁTORU KINGFISHER FLEX SYSTÉM

Příprava 96-jamkových destiček pro izolaci:

1. Připravte si Sample Plate. Do každé jamky postupně napipetujte 300 µl viRNAtrap Lysis Buffer, 100 µl vzorku, 400 µl čistého isopropanolu.
Pozn.: V případě použití externí pozitivní kontroly ji přidejte v objemu uvedeném v manuálu PCR kitu. Vzorky je možné dát maximálně do 94 jamek, 2 zbývající jsou nutné pro pozitivní a negativní kontrolu.
2. Připravte si Wash Plate 1. Do každé jamky připravte 250 µl promývacího roztoku Wash Buffer 1.
3. Připravte si Wash Plate 2. Do každé jamky připravte 250 µl promývacího roztoku Wash Buffer 2.
4. Připravte si Elution Plate. Do každé jamky připravte 50 až 100 µl Elution Buffer.


Použité destičky:

- DeepWell 96-jamková destička – Sample Plate, Wash Plate 1, Wash Plate 2
- 96- jamková destička Elution Plate

Protokol pro izolaci pomocí přístroje KingFisher Flex System je dostupný na adrese tech_support@genespector.com.

AUTOMATIZACE

Protokol izolace pomocí viRNAtrap™ Extraction Kit je kompatibilní s mnoha robotickými pipetovacími stanicemi. V případě zájmu kontaktujte výrobce.



GENERI BIOTECH s.r.o.
Machkova 587/42
CZ-500 11, Hradec Králové 11 – Třebeš
CZECH REPUBLIC

www.generi-biotech.com
tel.: +420 495 056 314
e-mail: info@generi-biotech.com

Vyrobeno pro GeneSpector s.r.o
Verze manuálu: 1.1
Datum poslední revize: 16. 11. 2020