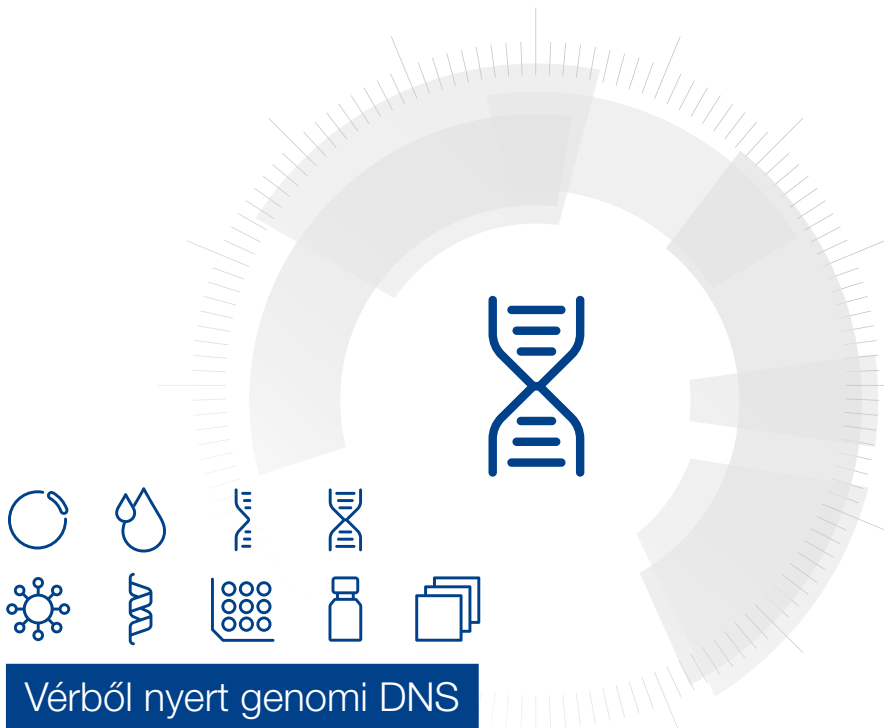


MACHEREY-NAGEL

Felhasználói kézikönyv



Vérből nyert genomi DNS

■ NucleoSpin® Dx Blood



In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
52355 Düren · Németország, Tel.: +49 24 21 969-0



2022. ápr./05. átdolg.



740899.50,
740899.250



50/250
preparátum

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-333
E-mail: support@mn-net.com

USA

MACHEREY-NAGEL Inc.
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)
E-mail: sales-us@mn-net.com

France

MACHEREY-NAGEL SAS
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France
Tel.: +33 388 68 22 68
E-mail: sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

Switzerland






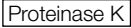
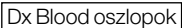


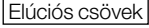

MACHEREY-NAGEL AG
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland
Tel.: +41 62 388 55 00
E-mail: sales-ch@mn-net.com

Tartalomjegyzék

1	Összetevők	4
1.1	A készlet tartalma	4
1.2	Szükséges, de nem biztosított reagensek, fogyóanyagok és eszközök	4
1.3	A használati útmutatóról	5
2	A termék leírása	6
2.1	Rendeltetésszerű használat	6
2.2	A termék használatának korlátai	6
2.3	Minőség-ellenőrzés	6
2.4	Bevezetés és a készlet jellemzői	7
2.5	Analitikai teljesítmény	8
2.6	Elúciós eljárások	9
3	Tárolási feltételek és az oldatok elkészítése	10
4	Biztonsági utasítások	11
4.1	Ártalmatlanítás	11
5	Genomi DNS tisztítása a NucleoSpin® Dx Blood segítségével	12
5.1	Protokollátekintő	13
5.2	Eljárás	14
6	Függelék	16
6.1	Hibaelhárítás	16
6.2	Bejelentési kötelezettség	18
6.3	Általános szakirodalom	18
6.4	Rendelésre vonatkozó információk	18
6.5	Jelmagyarázat	18
6.6	A termék használatának korlátozása/garancia	19

1 Összetevők

1.1 A készlet tartalma

NucleoSpin® Dx Blood			
REF		50 preparátum 740899.50	250 preparátum 740899.250
Buffer B3		15 mL	60 mL
Wash Buffer BW		30 mL	150 mL
Wash Buffer B5 (koncentrátum)*		12 mL	50 mL
Elution Buffer BE**		13 mL	60 mL
Proteinase Buffer PB		1,8 mL	8 mL
Proteinase K (líoofilizált)*		30 mg	2 × 75 mg
NucleoSpin® Dx Blood oszlopok (piros gyűrűk, illetve gyűjtőcsövek)		50	250
Gyűjtőcsövek (2 mL)		3 × 50	3 × 250
Líziscsövek (1,5 mL)		50	5 × 50
Elúciós csövek (1,5 mL)		50	5 × 50
Használati útmutató		1	1

1.2 Szükséges, de nem biztosított reagensek, fogyóanyagok és eszközök

Reagensek

- 96–100 %-os etanol (a DNS-kötési körülmények beállításához és a Wash Buffer B5 mosópuffer elkészítéséhez).

Fogyóeszközök

- Eldobható pipettahegyek (aeroszol-barrierrel ellátott pipettahegyek használata javasolt a keresztszennyezés elkerülése érdekében).

* Az oldatok elkészítésével és a tárolással kapcsolatos információkat a 3. fejezet ismerteti.

** Az Elution Buffer BE puffer összetétele: 5 mM Tris/HCl, pH 8,5

Eszközök

- Kézi pipettorok.
- Mikrocentrifuga-csövek számára alkalmas centrifuga.
- Vortex keverő.
- Fűtőblokk vagy vízfürdő (a minták 70 °C-on történő líziséhez).
- Személyes védőfelszerelés (pl. laboratóriumi köpeny, kesztyű, védőszemüveg).

1.3 A használati útmutatóról

Javasoljuk, hogy alaposan olvassa át a használati útmutató részletes protokollt tartalmazó fejezetét. A Protokollátekintő csupán egy kiegészítő eszköz, amely a tisztítási eljárás elvégzése közbeni gyors hivatkozási alapot szolgáltat.

A MACHEREY-NAGEL felhasználói kézikönyvek a következő honlapon érhetők el: **www.mn-net.com**.

A jelen használati útmutató előző verziókhöz képest történt módosításaival kapcsolatban, kérjük, lépjen kapcsolatba a műszaki szolgálattal.

Elérhetőségek

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennner Str. 11
52355 Düren, Németország
Tel.: +49 24 21 969-0
Díjmentesen hívható: 0800 26 16 000 (kizárólag Németországból)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-270
E-mail: tech-bio@mn-net.com

Benutzerhandbücher in weiteren Sprachen sind im Download-Bereich auf der Produktseite verfügbar.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Telechargements de la page du produit.

Los manuales de usuario en otros idiomas estan disponibles en la seccion de descargas de la pagina del producto.



2 A termék leírása

2.1 Rendeltetésszerű használat

A **NucleoSpin® Dx Blood** készlet a genomi DNS a szokásos vérvételi rendszerekkel nyert, EDTA-val, citráttal vagy heparinnal stabilizált friss és fagyasztott emberi teljes vérből történő izolálására szolgál későbbi in vitro elemzéshez. A termék használatával tisztított genomi DNS nyerhető, amely a mintákban található genomi DNS-sel kapcsolatos információnyerés céljából felhasználható későbbi downstream analízisekhez, mint például PCR-, qPCR-vizsgálathoz vagy szekvenáláshoz. A terméket képzett szakemberek általi, diagnosztikai laboratóriumban történő használatra tervezték.

A **NucleoSpin® Dx Blood** készlet nem alkalmas örvizsgálatra vagy „betegközeli” vizsgálatra. A felhasználónak jártasnak kell lennie a molekuláris biológiai technikákban, beleértve a teljes vérrrel és egyéb potenciálisan fertőző humán mintatípusokkal kapcsolatos tapasztalatokat.

Javasolt a megfelelő kontrollok, például belső kontrollok, extrakciós kontrollok vagy pozitív/negatív kontrollok alkalmazása.

2.2 A termék használatának korlátai

A **NucleoSpin® Dx Blood** készlet nem használható szövet- vagy székletmintákkal, illetve sejtmentes testnedvekkel, mint például plazma, szérum, vizelet vagy cerebrospinális folyadék. A készlet teljesítményét nem értékelték határrétegből kinyert (buffy coat), tenyésztett vagy izolált sejtek, kenetminták, szárított vérminták és virális DNS esetén. A készletet nem értékelték bakteriális, illetve gomba- vagy parazitaeredetű nukleinsavak izolálása és tisztítása esetén sem.

2.3 Minőség-ellenőrzés

A MACHEREY-NAGEL minőségbiztosítási rendszerének megfelelően, a termék megbízható minőségének biztosítása érdekében a **NucleoSpin® Dx Blood** készlet összes tételét megvizsgálták az előre meghatározott specifikációk szerint.

2.4 Bevezetés és a készlet jellemzői

A **NucleoSpin® Dx Blood** a jól ismert NucleoSpin® szilikamembrán technológián alapul, és egyszerű módszert biztosít a genomi DNS 200 µL teljesvérmintából történő izolálására. A tisztított DNS készen áll a downstream PCR-amplifikációra.

A **NucleoSpin® Dx Blood** eljárás egyszerű lépések sorozatán alapul:

A vérmintákat először kaotróp sók és Proteinase K jelenlétében lizálja. Ezután a lizátumban lévő genomi DNS **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopra történő kötése történik. Ezt követően a kötött nukleinsavakat tartalmazó membrán mosása, majd végül a nagy tisztaságú genomi DNS elúciója következik.

Minták

A készlet 200 µL friss vagy fagyasztott, szokásos vérvételi rendszerekkel nyert, EDTA-val, citráttal vagy heparinnal kezelt emberi teljes vérrrel használható.

200 µL emberi teljes vérből általában 3–5 µg genomi DNS nyerhető, a minta fehérvérsejtszámától függően.

Az alábbiakban a megfelelő vérvételi eszközök listája látható:

1. táblázat: A megfelelő vérvételi rendszerek listája

Vérvételi rendszer	Gyártó
S-Monovette® Li-heparin	Sarstedt
S-Monovette® EDTA	Sarstedt
S-Monovette® citrát	Sarstedt
VACUETTE® EDTA	GREINER BIO-ONE
BD VACUTAINER® K2E	BD
K3 EDTA	DELTA LAB
K2 EDTA	APTACA

A mintára vonatkozó korlátozások

A fagyasztott minták felolvasztása során keletkező krioprecipitátumok eltömíthetik a **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopot. Ha ilyen csapadék látható, kerülje annak felszívását, amikor a lizátumot az oszlopra tölti.

A hemolitikus és hiperlipémiás minták köztudottan befolyásolhatják a kinyert DNS mennyiségét és tisztaságát.

2. táblázat: Készletspecifikáció áttekintése

Paraméter	NucleoSpin® Dx Blood
Mintaanyag	Friss vagy fagyaszott, szokásos vérvételi rendszerekkel nyert, EDTA-val, citráttal vagy heparinnal kezelt emberi teljes vér.
Mintatérfogat	200 µL
Kinyert DNS átlagos mennyisége	3–5 µg (fehérvérsejtszámtól függően)
Kinyert DNS átlagos minősége	A_{260}/A_{280} arány – 1,7–1,9 A_{260}/A_{230} arány – 1,8–2,3
Elúciós térfogat	50–200 µL
Kinyert DNS átlagos koncentrációja	40–60 ng/µL
Feldolgozás	Centrifugálás

2.5 Analitikai teljesítmény

A futtatáson belüli ismételhetőséget 12 azonos vérmintaalkivot párhuzamos izolátumaiból számítottuk ki. A kinyert DNS átlagos mennyisége $5,2 \mu\text{g} \pm 0,3 \mu\text{g}$ volt, ami 6%-os CV-nek felel meg. A futtatások közötti ismételhetőséget két független futtatással vizsgáltuk. Mindkét futtatás során egy vérmintából, 6 párhuzamosból izoláltunk DNS-t. A két futtatás során kinyert DNS átlagos mennyisége közötti különbség $0,2 \mu\text{g}$ volt, ami 6%-nak felel meg. A tételek közötti ismételhetőség kiszámításához a NucleoSpin® Dx Blood készlet három tételét hasonlítottuk össze párhuzamosan. Az egyes tételek esetén 6 párhuzamos mintából izoláltunk gDNS-t. Minden párhuzamos mintát egy vérmintából vettünk. A hat-hat preparátumból kinyert DNS átlagos mennyisége 5,2; 4,8 és $5,0 \mu\text{g}$ volt, 0,4; 0,5 és $0,5 \mu\text{g}$ -os szórással. A három tételből nyert átlagos mennyiség CV-je 4% volt.

Az ismételhetőség értékeléséhez két felhasználó párhuzamosan izolálta a DNS-t teljes vérből. Az átlagosan kinyert mennyiség ($n = 6$) $2,9 \pm 0,3 \mu\text{g}$, illetve $3,0 \pm 0,2 \mu\text{g}$ volt, ami hat-hat preparátumunként 9%-os, illetve 7%-os CV-nek felel meg. A két felhasználó által kinyert átlagos mennyiség közötti különbség $0,1 \mu\text{g}$ volt.

A **NucleoSpin® Dx Blood** in vitro diagnosztikai felhasználására a következő publikációkban található példák:

Hadzsiev, K. *et al.* (2019) Rubinstein-Taybi syndrome 2 with cerebellar abnormality and neural tube defect. *Clin Dysmorphol.*, 28(3), 137–141.

Komlósi, K. *et al.* (2015) Phenotypic variability in a Hungarian patient with the 4q21 microdeletion syndrome. *Mol Cytogenet.*, 8, 16.

Czakó, M. *et al.* (2019) Possible Phenotypic Consequences of Structural Differences in Idic(15) in a Small Cohort of Patients. *Int J Mol Sci.*, 20(19), 4935.

Szabo, A. *et al.* (2015) Partial tetrasomy of the proximal long arm of chromosome 15 in two patients: the significance of the gene dosage in terms of phenotype. *Mol Cytogenet.*, 8, 41.

2.6 Elúciós eljárások

A DNS-t 50–200 μL Elution Buffer BE pufferrel kell eluálni a **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopokról. A kinyert DNS teljes mennyisége az elúciós térfogat emelésével nő, míg a DNS-koncentráció csökken (lásd 1. ábra).

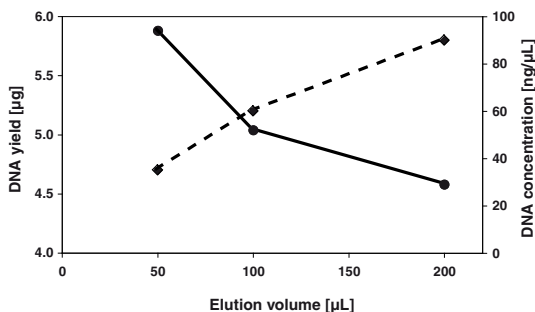
Az eluátumból jellemzően legfeljebb 10 μL használható templátként egy 50 μL -es PCR-keverékben anélkül, hogy az befolyásolná a PCR teljesítményét. Az eluált DNS-t ajánlott $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolni. A legtöbb downstream alkalmazást nem befolyásolja a többször végzett fagyasztási-felolvasztási ciklus.

A nukleinsavak tárolása

Ajánlás:

Rövid ideig tartó tárolás (legfeljebb 24 óra): $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$

Hosszabb ideig tartó tárolás (24 óránál tovább): $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$



1 . ábra

Az elúciós térfogat teljes kinyert DNS-mennyiségre (szaggatott vonal) és DNS-koncentrációra (folytonos vonal) gyakorolt hatása. Az elúciót 50, 100 és 200 μL -rel végeztük.

3 Tárolási feltételek és az oldatok elkészítése

Figyelem:

- A készlet kézhezvétele után ellenőrizze, hogy minden komponense ép-e. Ha a készlet tartalma, például a pufferes üvegek, vagy a buboréksomagolások sérültek, lépjen kapcsolatba a MACHEREY-NAGEL műszaki támogatásával és ügyfélszolgálatával vagy a helyi forgalmazójával.
- Ne használja a készlet sérült elemeit.
- A **NucleoSpin® Dx Blood** készletet a megérkezést követően 18–25 °C-on kell tárolni. NEM szükséges a készletet a kiszállítás után felnyitni és az egyes komponenseket külön tárolás céljából kivenni.
- A **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopok a készlet dobozán feltüntetett lejárati dátumig használhatók fel.

A **NucleoSpin® Dx Blood** protokoll lépéseinek megkezdése előtt készítse elő a következőket:

- **Wash Buffer B5 mosópuffer:** Adja hozzá a megadott mennyiségű etanolt (96–100 %, lásd az alábbi táblázatot vagy a palackot) a **Wash Buffer B5 koncentrátumhoz**. Jelölje a palack címkéjén, hogy etanolt adtak hozzá. Tárolja a Wash Buffer B5 mosópuffert 18–25 °C-on a lejárati dátumig.
- A liofilizált **Proteinase K** a lejárati dátumig 18–25 °C-on tárolható anélkül, hogy csökkenne a teljesítménye. A készlet első felhasználása előtt a feloldás érdekében adja hozzá a megadott mennyiségű **Proteinase Buffer PB** puffert a liofilizált Proteinase K-hoz. A feloldott Proteinase K-t –20 °C-on kell tárolni maximum 6 hónapig, de legfeljebb a lejárati dátumig.
- A tárolás során, különösen alacsony hőmérsékleten, fehér csapadék képződhet a Buffer B3 és Buffer BW pufferekben. Ez a csapadék könnyen feloldható, ha a palackot felhasználás előtt 5 percig 70 °C-on inkubálják.

NucleoSpin® Dx Blood		
REF	50 preparátum 740899.50	250 preparátum 740899.250
Wash Buffer B5 mosópuffer (koncentrátum)	12 mL Adjon hozzá 48 mL etanolt	50 mL Adjon hozzá 200 mL etanolt
Proteinase K	30 mg Adjon hozzá 1,35 mL proteináz puffert	2 × 75 mg Adjon hozzá 3,35 mL proteináz puffert mindegyik injekciós üveghez

4 Biztonsági utasítások

A **NucleoSpin® Dx Blood** készlet használata során viseljen megfelelő védőruházatot (pl. laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget). További információért tekintse meg az adott anyagokra vonatkozó biztonsági adatlapokat (az adatlapok elérhetők online a következő weboldalon: <http://www.mn-net.com/msds>).



Vigyázat: A B3 és BW pufferben található guanidin-hidroklorid hipóval elegyedve rendkívül reaktív vegyületeket képezhet! Ezért ne adjon fehérítőszerrel vagy savas vegyhatású oldatokat közvetlenül a minta-előkészítési hulladékhoz.

A **NucleoSpin® Dx Blood** készlet használatakor keletkező hulladékot nem vizsgálják a maradvány fertőző anyagok jelenléte szempontjából. A hulladékfolyadék szennyeződése maradvány fertőző anyagokkal nagyon valószínűtlen az erős denaturáló tulajdonsággal bíró lízispufferrel és Proteinase K-val történő kezelés miatt, de nem zárható ki teljes mértékben. A hulladékfolyadékokat ezért fertőzőnek kell tekinteni és a helyi biztonsági előírásokat követve kell kezelni és ártalmatlanítani.

4.1 Ártalmatlanítás

A veszélyes, fertőző vagy biológiailag szennyezett anyagokat biztonságos és megfelelő módon, az összes helyi előírást és szabályozási követelményt betartva kell ártalmatlanítani.

5 Genomi DNS tisztítása a NucleoSpin® Dx Blood segítségével

Az alábbi eljárás egyetlen vérminta feldolgozására vonatkozó utasításokat tartalmaz. Egyszerre azonban több minta is feldolgozható – a minták száma az alkalmazott mikrocentrifuga kapacitásától függ.





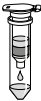

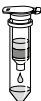


Az előkészítés megkezdése előtt:



- Ellenőrizze, hogy a Buffer B5 puffert és a Proteinase K-t a 3. fejezetben leírtaknak megfelelően előkészítette-e.
- Ellenőrizze, hogy rendelkezésre áll-e 96 – 100 %-os etanol (denaturált vagy nem denaturált) a DNS-kötési körülmények beállításához.
- Állítson be egy inkubátort (pl. fűtőblokkot) vagy vízfürdőt 70 °C-ra.
- Melegítse fel a vérmintákat szoba-hőmérsékletűre. Győződjön meg arról, hogy a minták jól felkeveredtek.
- Ha a Lysis Buffer B3 vagy Buffer BW pufferben csapadék képződött, addig inkubálja a puffert 70 °C-on, amíg a csapadék fel nem oldódik.
- Általában ne keverjen össze különböző készletekből és tételekből származó reagenseket és oszlopokat.
- Melegítse fel az Elution Buffer BE puffert szoba-hőmérsékletűre.
- Ne adja hozzá közvetlenül a Proteinase K oldatot a Lysis Buffer B3 pufferhez. A Buffer B3 hozzáadása előtt a Proteinase K-t össze kell keverni a vérmintával.
- Minden centrifugálási lépést szobahőmérsékleten kell elvégezni.

5.1 Protokolláttekintő

Kiegészítő protokolláttekintő:

Az eljárás megkezdése előtt alaposan olvassa át a protokoll részletes leírását (5.2 fejezet).

Vérminták lízise	1	25 µL Proteinase K	
	2	200 µL vér	
	3	200 µL B3, keverés	
	4	Szobahőmérséklet, 5 perc	
	5	70 °C, 10 perc, keverés	
	6	2000 x g, 1 mp	
DNS-kötési körülmények beállítása	7	210 µL etanol, keverés	
	8	2000 x g, 1 mp	
DNS kötése	9	Lizátum oszlopra töltése	
	10	11 000 x g, 1 perc	
	11	Vigye át a NucleoSpin® Dx Blood oszlopot egy új gyűjtőcsőbe	
A szilikamembrán mosása	12	500 µL BW	
	13	11 000 x g, 1 perc	
	14	Vigye át a NucleoSpin® Dx Blood oszlopot egy új gyűjtőcsőbe	
	15	600 µL B5	
	16	11 000 x g, 1 perc	
A szilikamembrán szárítása	17	Vigye át a NucleoSpin® Dx Blood oszlopot egy új gyűjtőcsőbe	
	18	11 000 x g, 1 perc	

DNS elúciója	19	Vigye át a NucleoSpin® Dx Blood oszlopot egy elúciós csőbe	
	20	50 – 200 µL BE	
	21	11 000 x g, 1 perc	

5.2 Eljárás

- Pipetázzon **25 µL Proteinase K** oldatot egy líziscsőbe (1,5 mL, mellékelve).
- Tegyen **200 µL vérmintát** a líziscsőbe. Keverje össze.
- Tegyen **200 µL Buffer B3** puffert a líziscsőbe, zárja le a fedelét, és keverje 10 másodpercig erőteljes pulzáló vortexeléssel.
Ne keverje össze előzetesen a Buffer B3 puffert és a Proteinase K-t!
- Inkubálja **szobahőmérsékleten 5 percig** (± 1 perc).
- Inkubálja a líziscsövet **70 °C-on** (± 2 °C) **10 percig** (± 1 perc). Az inkubálás után keverje 5 másodpercig erőteljes pulzáló **vortexeléssel**.
- A líziscső **rövid centrifugálásával** (kb. 1 mp 2000 x g-vel) távolítsa el a cseppeket a fedőről (csak rövid pörgetés).
- Adjon **210 µL etanolt** (96–100 %) a mintához. Zárja le a fedelet, és keverje 5 másodpercig pulzáló vortexeléssel.
Ügyeljen arra, hogy az etanol és a lízátnak jól elkeveredjen.
- A líziscső **rövid centrifugálásával** (kb. 1 mp 2000 x g-vel) távolítsa el a cseppeket a fedőről (csak rövid pörgetés).
- Óvatosan **töltse a teljes lízátnak** a gyűjtőcsőbe helyezett **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopra, és zárja le a fedelet.
- Centrifugálja 1 percig 11 000 x g-vel.**
Ha a lízátnak nem szűrődik át teljesen a membránon, ismétlje meg a centrifugálást nagyobb erővel (15 000–20 800 x g 1 percig). Ha a lízátnak még mindig nem jut át teljesen a membránon, dobja ki a mintát, és ismétlje meg az izolálást új mintanyaggal.
- Helyezze a **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopot egy új gyűjtőcsőbe (2 mL, mellékelve), és dobja ki az előző lépésből származó átfolyt folyadékot tartalmazó gyűjtőcsövet.
- Nyissa ki a **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopot, és adjon **500 µL Buffer BW** puffert az oszlophoz. Zárja le a fedelet.
Megjegyzés: Győződjön meg arról, hogy a maradék lízátnak a Buffer BW pufferral mossa le.

13 Centrifugálja 1 percig 11 000 x g-vel.

14 Helyezze a **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopot egy új gyűjtőcsőbe (2 mL, mellékelve), és dobja ki az előző lépésből származó átfolyt folyadékot tartalmazó gyűjtőcsövet.

15 Nyissa ki a **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopot, és adjon **600 µL Buffer B5** puffert az oszlophoz. Zárja le a fedelet.

Megjegyzés: Győződjön meg arról, hogy az előző lépésből visszamaradt mosópuffert lemossa a Buffer B5 pufferrel.

16 Centrifugálja 1 percig 11 000 x g-vel.

17 Helyezze a **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopot egy új gyűjtőcsőbe (2 mL, mellékelve), és dobja ki az előző lépésből származó átfolyt folyadékot tartalmazó gyűjtőcsövet.

18 Centrifugálja 1 percig 11 000 x g-vel.

A maradék etanol ebben a lépésben kerül eltávolításra.

19 Helyezze a **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopot egy tiszta elúciós csőbe (1,5 mL, mellékelve), és dobja ki az előző lépésből származó gyűjtőcsövet.

20 Nyissa ki a **NucleoSpin® Dx Blood** oszlopot, és **adagoljon 50–200 µL Buffer BE** puffert közvetlenül a membrán közepére.

21 Centrifugálja 1 percig 11 000 x g-vel a DNS oszlopról történő eluálása érdekében.

6 Függelék

6.1 Hibaelhárítás

Probléma	Lehetséges ok és megoldási javaslat
	<p><i>Alacsony fehérvérsejt-koncentráció a mintában</i></p> <ul style="list-style-type: none"> A kinyert DNS mennyisége a minták fehérvérsejtszámától függ. Az alacsony fehérvérsejtszámú vérminták alacsony DNS-mennyiséget eredményeznek. <p><i>A minta részleges lízise</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Inhomogén vérminta vagy vérrögök a mintában: Győződjön meg arról, hogy a vérminták gyűjtése a vérvételi cső gyártójának utasításai szerint történik. Győződjön meg arról, hogy csak olyan vért használ mintanyagként, amely pipettázással könnyen átvihető. Szükség esetén homogenizálja a vérmintát a felhasználás előtt. A minta nincs alaposan összekeverve a Proteinase K-val és a lízispufferrel. Az elegyet a Lysis Buffer B3 puffer hozzáadása után azonnal erőteljesen vortexelni kell. A Proteinase K általi bontás nem optimális. Soha ne adja hozzá közvetlenül a Proteinase K-t a Lysis Buffer B3 pufferhez.
Nincs vagy alacsony a DNS-hozam	<p>Nem megfelelően alkalmazott <i>reagensek</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Készítse elő a puffereket és a Proteinase K-t az utasításoknak (3. fejezet) megfelelően. Adjon etanol a lizátumhoz, még mielőtt a lizátumot az oszlopra tölténé. <p><i>Nem megfelelő centrifugálás</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Ne lépje túl a 6. és 8. lépésben megadott centrifugálási időt és sebességet. A cseppeket csak egy rövid pörgetéssel távolítsa el a fedélről. <p><i>A DNS oszlopról történő elúciója nem optimális</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Az elúció hatékonysága az elúciós puffer térfogatától függ. A legnagyobb elúciós hatékonyság eléréséhez használjon 200 µL elúciós puffert; a legnagyobb DNS-koncentrációhoz pedig használjon 50 µL elúciós puffert.
Eltömődött DNS-kötő oszlop	<p><i>Inhomogén vérminták</i></p> <ul style="list-style-type: none"> A fagyasztott minták felolvasztása során keletkező krioprecipitátum eltömítheti a NucleoSpin® Dx Blood oszlopot. Ha ilyen csapadék látható, kerülje annak felszívását, amikor a lizátumot az oszlopra tölti. Csapadék a friss vérmintákban is képződhet. Győződjön meg arról, hogy a minták jól felkeveredtek. Ha a membrán eltömődik a DNS-kötési lépés során, ismételje meg a centrifugálást nagyobb erővel (15 000 – 20 800 x g 1 percig).

Probléma	Lehetséges ok és megoldási javaslat
	<p><i>Nem megfelelően alkalmazott reagensek</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Készítse elő a puffereket és a Proteinase K-t az utasításoknak (3. fejezet) megfelelően. Adjon etanolt a lizátumhoz, és keverje össze, mielőtt a lizátumot az oszlopra tölténé. <p><i>A minta részleges lízise</i></p> <ul style="list-style-type: none"> A minta nincs alaposan összekeverve a Proteinase K oldattal és a lizispufferrel. Az elegyet a lizispuffer hozzáadása után azonnal erőteljesen vortexelni kell. A Proteinase K általi bontás nem optimális. Ne adja hozzá közvetlenül a Proteinase K-t a Lysis Buffer B3 pufferhez. <p><i>Régi vagy alvadékos vérminták feldolgoása</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Ügyeljen arra, hogy csak olyan vért használjon mintaananyagként, amely pipettázással könnyen átvihető. Szükség esetén homogenizálja a vérmintát a felhasználás előtt.
Gyenge DNS-minőség	<p><i>Az etanol átvitele</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Ügyeljen arra, hogy a DNS elúciója előtt az összes etanosos Buffer B5 puffer eltávolításra kerüljön. Ha a második mosás után a Wash Buffer B5 puffer átfolyt mennyiségének szintje bármilyen okból eléri az oszlop kimenetét, dobja ki az átfolyt mennyiséget, helyezze vissza az oszlopot a gyűjtőcsőbe, és ismétlje meg a centrifugálást. A DNS-eluátum nyomokban etanolt tartalmazhat. A PCR végtérfogatának legfeljebb 20 %-át kitevő DNS-eluátumot használva templátként (pl. 100 µL eluátumból 4 µL-t használva templátként egy 20 µL-es PCR-keverékben) azonban nem tapasztaltuk a PCR teljesítményének csökkenését. A templát PCR-keverékben lévő térfogatának maximális százalékos aránya a PCR-rendszer robustusságától függően változhat, és ezt a felhasználónak kell meghatározni. <p><i>A DNS gátlóanyagokkal való szennyeződése</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Ha régi vagy alvadékos vérmintából nyer ki DNS-t, győződjön meg arról, hogy csak olyan vért használ mintaananyagként, amely pipettázással könnyen átvihető. Szükség esetén homogenizálja a vérmintát a felhasználás előtt.
A genomi DNS szuboptimális teljesítménye az enzimatis reakciók során	

Kérjük, lépjen kapcsolatba a következővel:

MACHEREY-NAGEL Germany
 Tel.: +49 (0) 24 21 969 270
 E-mail: TECH-BIO@mn-net.com

6.2 Bejelentési kötelezettség

Kérjük, vegye figyelembe, hogy a termékkel kapcsolatban bekövetkezett bármilyen súlyos eseményt haladéktalanul jelentenie kell a gyártónak és azon európai tagállam illetékes hatóságának, ahol az esemény bekövetkezett. Európai készenléti kapcsolattartó pontok: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en

6.3 Általános szakirodalom

Thiemann F. *et al.* (2006) Leitfaden Molekulare Diagnostik - Grundlagen, Gesetze, Tipps und Tricks, WILEY-VCH, ISBN 3-527-31471-7.

Orzińska A. *et al.* (2015) 14 Years of Polish Experience in Non-Invasive Prenatal Blood Group Diagnosis. *Transfus Med Hemother*, 42, 361 – 364.

Papadopoulou A. *et al.* (2014) Calcium sensing receptor in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. *Placenta*, 35, 632e638.











Bleda S. *et al.* (2012) Vascular endothelial growth factor polymorphisms are involved in the late vascular complications in Type II diabetic patients. *Diabetes & Vascular Disease Research*, 9(1), 68 – 74.

6.4 Rendelésre vonatkozó információk

Termék	REF	Kiszerezés
NucleoSpin® Dx Blood	740899.50/.250	50/250
NucleoSpin® Dx Virus	740895.50	50
NucleoMag® Dx Pathogen	744215.4	384

Részletesebb termékinformációkért, kérjük, látogasson el a www.mn-net.com honlapra.

6.5 Jelmagyarázat

 Cikkszám	 Megengedett tárolási hőmérséklet-tartomány
 Tételazonosító	 Felhasználható
 Gyártó	 Vigyázat: További információkat a használati útmutató tartalmaz
 <i>In vitro</i> diagnosztikai termékek	 Tilos újrafelhasználni.
 Kérjük, olvassa el a használati útmutatót	
 < n > teszt elvégzéséhez elegendő	

6.6 A termék használatának korlátozása/garancia

A **NucleoSpin® Dx Blood** készlet egy általános rendszer, amely a genomi DNS teljesvérmintákból történő izolálására és tisztítására szolgál későbbi in vitro diagnosztikai elemzés céljából.

A készlet alkalmas bármely, a DNS enzimatiszus amplifikációját és detekcióját alkalmazó downstream (pl. PCR) eljárással való használatra. A **NucleoSpin® Dx Blood** készlet használatával izolált DNS felhasználásával és ezek diagnosztikai tesztelésével nyert minden diagnosztikai eredményt a további klinikai és laboratóriumi vizsgálati eredményekkel együttesen kell értelmezni. A **NucleoSpin® Dx Blood** készlet használatával nem nyerhető diagnosztikai értékű eredmény. A felhasználó kizárólagos felelőssége, hogy a készletet egy downstream in vitro diagnosztikai teszttel együttesen alkalmazza és validálja. **KIZÁRÓLAG** a kifejezetten IVD jelzéssel ellátott MACHEREY-NAGEL termékek alkalmasak az in vitro diagnosztikai használatra.

A biztonsági utasításokért, kérjük, tekintse át a felhasználói kézikönyv vonatkozó fejezetét. A **NucleoSpin® Dx Blood** készlet kizárólag megfelelő vizsgálati környezetben, azaz megfelelő laboratóriumi körülmények között alkalmazható.

Az adott felhasználó felel a **NucleoSpin® Dx Blood** készlet felhasználói kézikönyvben meghatározott rendeltetészerű használatától eltérő alkalmazásából eredő minden kárért.

A jelen MACHEREY-NAGEL terméket a specifikációkat és egyéb műszaki információkat tartalmazó dokumentációval együtt szállítják. A MACHEREY-NAGEL garantálja, hogy a termék megfelel az ebben foglalt specifikációknak. A MACHEREY-NAGEL kizárólagos kötelezettsége és a vásárló egyetlen jogorvoslati lehetősége a termék díjmentes cseréjére korlátozódik abban az esetben, ha a termékek nem a szavatolt módon teljesítenek. Kiegészítő hivatkozásként tekintse meg a MACHEREY-NAGEL alábbi általános szerződési feltételeit, amelyek megtalálhatók az árlistán. Amennyiben további példányra lenne szüksége, kérjük, vegye fel velünk a kapcsolatot.

A MACHEREY-NAGEL nem vállal garanciát és nem felel azokért a károkért vagy hibákért, amelyek a szállítás és kezelés során keletkeznek (a vásárlók részére szállítási biztosítás kötésére nincs lehetőség), illetve amelyek a termék balesetből, helytelen vagy nem rendeltetészerű használatából erednek; a nem a MACHEREY-NAGEL által gyártott termékek vagy alkatrészek hibáért, vagy az olyan károkért, amelyek az ilyen, nem a MACHEREY-NAGEL által gyártott termékek vagy alkatrészek hibáiból erednek.

A MACHEREY-NAGEL nem vállal semmilyen más garanciát, és **KIFEJEZETTEN KIZÁR MINDEN EGYÉB, BÁRMILYEN JELLEGŰ VAGY TERMÉSZETŰ GARANCIÁT, BÁRMILYEN KÖZVETLEN VAGY KÖZVETETT, KIFEJEZETT VAGY HALLGATÓLAGOS GARANCIÁT, BELEÉRTVE KORLÁTOZÁS NÉLKŰL AZ ALKALMASSÁGRA, REPRODUKÁLHATÓSÁGRA, TARTÓSSÁGRA, EGY ADOTT CÉLRA VAGY FELHASZNÁLÁSRA VALÓ ALKALMASSÁGRA, ELADHATÓSÁGRA, ÁLLAPOTRA VONATKOZÓ, VAGY BÁRMELY, A MACHEREY-NAGEL TERMÉKRE VONATKOZÓ EGYÉB GARANCIÁT.**

A MACHEREY-NAGEL semmilyen körülmények között nem tartozik felelősséggel semmilyen más kárért, legyen az közvetlen, közvetett, véletlen, kompenzációs, előre látható, következményes vagy különleges (beleértve, de nem kizárólagosan a használhatatlanná válást, a bevétel- vagy nyereségkiesést), akár garanciális, szerződéses, kártérítési (beleértve a hanyagságot is) felelősségen vagy szigorú felelősségen alapul, amely a MACHEREY-NAGEL termékek értékesítésével vagy a megadott specifikációknak való nem megfelelésével kapcsolatban felmerül. Ez a garancia kizárólagos, és a MACHEREY-NAGEL nem vállal semmilyen más kifejezett vagy hallgatóságos garanciát.

Az itt meghatározott garanciák, valamint a MACHEREY-NAGEL által megjelölt katalógusokban és termékismertetőikben szereplő, a MACHEREY-NAGEL termékre

vonatkozó adatok, specifikációk és leírások a MACHEREY-NAGEL kizárólagos nyilatkozatai a termékkel és garanciákkal kapcsolatban. A MACHEREY-NAGEL alkalmazottai, ügynökei vagy képviselői által tett semmilyen más írásbeli vagy szóbeli nyilatkozatra vagy kijelentésre, kivéve a MACHEREY-NAGEL által arra teljes körűen felhatalmazott személy által tett aláírt írásbeli nyilatkozatokat, a vásárló nem hagyatkozhat és nem képezik az adásvételi szerződés vagy a jelen jótállás részét.

A termékre vonatkozó állítások változhatnak. Ezért a MACHEREY-NAGEL termékekkel kapcsolatos legfrissebb információkért kérje a műszaki ügyfélszolgálatunk segítségét. Általános tudományos információkért a helyi forgalmazójához is fordulhat. A MACHEREY-NAGEL termékismertetőkből említett alkalmazások csak tájékoztató jellegűek. A MACHEREY-NAGEL nem garantálja, hogy minden alkalmazást a MACHEREY-NAGEL termékeivel a MACHEREY-NAGEL laboratóriumaiban teszteltek. A MACHEREY-NAGEL nem garantálja ezen alkalmazások helyességét.

Legutóbbi frissítés: 2022. ápr./05. átdolg.

Az átdolgozás oka:

Analitikai és klinikai teljesítményre vonatkozó adatok hozzáadása a 2.5 fejezethez. Hivatkozás a használati útmutató új nyelvű kiadására (1.3 fejezet).

Védjegyek:

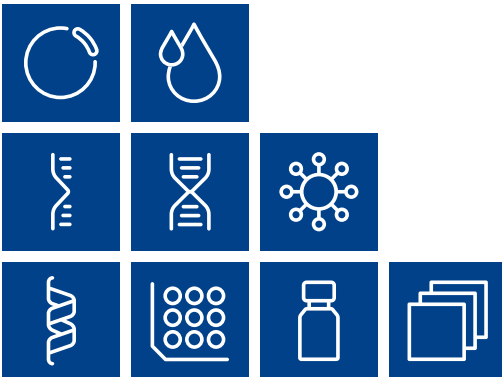
A BD VACUETTE a BD védjegye.

A NucleoSpin® a MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG védjegye.

Az S-Monovette a Sarstedt bejegyzett védjegye.

A Vacuette a GREINER BIO-ONE védjegye.

Minden használt név és elnevezés lehet az adott tulajdonos márkája, védjegye vagy bejegyzett logója – akkor is, ha ezek nem különleges elnevezések. A termékek és márkák említése csak tájékoztatás (vagyis nem sérti meg a védjegyeket és márkákat, és nem tekinthető ajánlásnak vagy értékelésnek). Ezekre a termékekre vonatkozóan nem tudunk semmilyen garanciát vállalni a kiválasztást, hatékonyságot vagy működést illetően.



Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

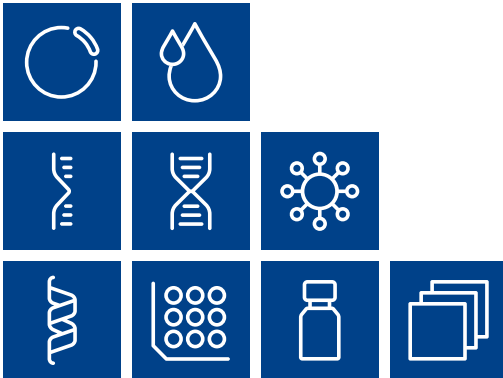
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennner Str. 11
52355 Düren · Germany

DE	Tel.: +49 24 21 969-0	info@mn-net.com
CH	Tel.: +41 62 388 55 00	sales-ch@mn-net.com
FR	Tel.: +33 388 68 22 68	sales-fr@mn-net.com
US	Tel.: +1 888 321 62 24	sales-us@mn-net.com

A038139/042x.xx