

MACHEREY-NAGEL

Uživatelská příručka



Genomová DNA z krve

■ NucleoSpin® Dx Blood

IVD Diagnostický zdravotnický prostředek
in vitro

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

i Duben 2022 / Rev. 05

CE

REF 740899.50,
740899.250

Σ 50/250 dávek

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

Obsah

1	Součásti	4
1.1	Obsah sady	4
1.2	Reagencie, spotřební látky a vybavení, které si musí uživatel zajistit	5
1.3	O této uživatelské příručce	5
2	Popis produktu	6
2.1	Zamýšlené použití	6
2.2	Omezení použití produktu	6
2.3	Kontrola kvality	6
2.4	Úvod a specifikace sady	7
2.5	Analytická funkce	8
2.6	Postupy eluce	9
3	Podmínky skladování a příprava pracovních roztoků	10
4	Bezpečnostní pokyny	11
4.1	Likvidace	11
5	Purifikace genomové DNA pomocí sady NucleoSpin® Dx Blood	12
5.1	Přehled protokolu	13
5.2	Postup	14
6	Dodatek	16
6.1	Řešení problémů	16
6.2	Povinné hlášení	18
6.3	Přehled literatury	18
6.4	Informace pro objednávky	18
6.5	Vysvětlivky symbolů	18
6.6	Omezení použitelnosti produktu / záruka	19

1 Součásti

1.1 Obsah sady

NucleoSpin® Dx Blood			
REFERENCE		50 dávek 740899.50	250 dávek 740899.250
Pufr Buffer B3		15 mL	60 mL
Promývací pufr Wash Buffer BW		30 mL	150 mL
Koncentrát promývacího pufru Wash Buffer B5 (Concentrate)*		12 mL	50 mL
Eluční pufr Elution Buffer BE**		13 mL	60 mL
Pufr proteinázy Proteinase Buffer PB		1,8 mL	8 mL
Proteináza Proteinase K (lyofilizovaná)*		30 mg	2 × 75 mg
Kolony NucleoSpin® Dx Blood Column (červené kroužky plus odběrové zkumavky Collection Tube)		50	250
Odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL)		3 × 50	3 × 250
Lyzační zkumavky Lysis Tube (1,5 mL)		50	5 × 50
Eluční zkumavky Elution Tube (1,5 mL)		50	5 × 50
Uživatelská příručka		1	1

* Přípravu pracovních roztoků a podmínky jejich skladování uvádí část 3.

** Složení elučního pufru Elution Buffer BE: 5 mM Tris-HCl, pH 8,5

1.2 Reagencie, spotřební látky a vybavení, které si musí uživatel zajistit

Reagencie:

- 96 – 100 % etanol (k úpravě podmínek vazby DNA a k přípravě promývacího pufru Wash Buffer B5).

Spotřební látky:

- jednorázové pipetovací hroty (za účelem prevence zkřížené kontaminace jsou doporučeny pipetovací hroty s aerosolovou bariérou).

Vybavení:

- manuální pipetovače,
- odstředivka pro mikrocentrifugační zkumavky,
- vířivý mixér,
- tepelný ohřívací blok nebo vodní lázeň (pro lýzu vzorků při teplotě 70 °C),
- osobní ochranné prostředky (např. laboratorní plášť, rukavice, brýle).

1.3 O této uživatelské příručce

Je důrazně doporučeno si v této uživatelské příručce přečíst podrobnou protokolární část. Protokol do kapsy slouží pouze jako doplněk pro rychlou nápovědu při provádění postupu purifikace.

Uživatelské příručky společnosti MACHEREY-NAGEL jsou k dispozici na internetu na adrese **www.mn-net.com**.

Chcete-li získat informace o změnách v aktuální uživatelské příručce oproti předchozím verzím, kontaktujte technický servis.

Kontaktní údaje

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennner Str. 11
52355 Duren, Německo
Tel.: +49 24 21 969-0
Nezpoplatněný: 0800 26 16 000 (platí pouze pro Německo)
E-mail: info@mn-net.com

Technická podpora pro bioanalýzu

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 Popis produktu

2.1 Zamýšlené použití

NucleoSpin® Dx Blood je sada k izolaci genomové DNA z čerstvé i mražené lidské plné krve stabilizované EDTA, citrátem nebo heparinem získané z běžných systémů pro odběr krve k následné analýze *in vitro*. Poskytuje purifikovanou genomovou DNA, kterou lze použít k následné analýze za účelem získání informací o genomové DNA ve vzorku, jako je např. PCR, qPCR nebo sekvenace. Tento produkt používají profesionálové v diagnostických laboratořích.

Sada **NucleoSpin® Dx Blood** není vhodná k samotestování ani testování přímo u pacienta. Uživatel této sady musí mít zkušenosti s molekulárně biologickými technikami včetně práce s plnou krví a jinými potenciálně infekčními lidskými vzorky.

Je doporučeno používat vhodné kontroly, jako např. vnitřní kontroly, extrakční kontroly a pozitivní/negativní kontroly.

2.2 Omezení použití produktu

Sada **NucleoSpin® Dx Blood** není určena k použití se vzorky tkáně nebo stolice ani bezbuněčnými tělními tekutinami, jako je plazma, sérum, moč nebo mozkomíšní mok. Funkce sady nebyla hodnocena v případě vrstvy buffy coat, kultivovaných nebo izolovaných buněk, stěrů, suchých krevních skvrn a virové DNA. Sada rovněž není určena k izolaci a purifikaci bakteriálních, plísňových nebo parazitárních nukleových kyselin.

2.3 Kontrola kvality

V souladu se systémem pro řízení kvality společnosti MACHEREY-NAGEL je každá šarže sady **NucleoSpin® Dx Blood** testována proti předem definovaným specifikacím, aby byla zajištěna stálá kvalita těchto produktů.

2.4 Úvod a specifikace sady

Sada **NucleoSpin® Dx Blood** je založena na osvědčené technologii křemíkových membrán NucleoSpin® a poskytuje snadný způsob izolace genomové DNA z 200 µl vzorků plné krve. Purifikovaná DNA je připravena k použití k následné amplifikaci PCR.

Postup použití sady **NucleoSpin® Dx Blood** je založen na sérii jednoduchých kroků:

Nejprve se vzorky krve lyzují za přítomnosti chaotropních solí a proteinázy Proteinase K. Genomová DNA v lyzátu se poté naváže na kolonu **NucleoSpin® Dx Blood Column**. Následně se membrána s navázanými nukleovými kyselinami promyje a nakonec se eluuje vysoce čistá genomová DNA.

Vzorky

Sadu lze použít s 200 µl čerstvé nebo mražené lidské plné krve ošetřené EDTA, citrátem nebo heparinem, získané z běžných systémů pro odběr krve.

Obvykle lze z 200 µl lidské plné krve získat 3–5 µg genomové DNA v závislosti na počtu bílých krvinek ve vzorku.

Níže je uveden výběr vhodných prostředků pro odběr krve:

Tabulka 1: Výběr vhodných systémů pro odběr krve

Systém pro odběr krve	Výrobce
S-Monovette® Lithium-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

Omezení týkající se vzorků

Kryosraženiny vzniklé při rozmrazování mražených vzorků mohou ucpat kolonu **NucleoSpin® Dx Blood Column**. Pokud jsou takové sraženiny viditelné, vyhněte se jejich aspiraci při vkládání lyzátu do vázací kolony.

Hemolytické a hyperlipidemické vzorky mohou pochopitelně ovlivnit výtěžnost a čistotu DNA.

Tabulka 2: Přehled specifikací sady

Parametr	NucleoSpin® Dx Blood
Materiál vzorků	Čerstvá nebo mražená lidská plná krev ošetřená EDTA, citrátem nebo heparinem získaná z běžných systémů pro odběr krve
Objem vzorku	200 µl
Obvyklá výtěžnost DNA	3–5 µg v závislosti na počtu bílých krvinek
Obvyklá kvalita DNA	Poměr A_{260}/A_{280} 1,7–1,9 Poměr A_{260}/A_{230} 1,8–2,3
Eluční objem	50–200 µl
Obvyklá koncentrace DNA	40–60 ng/µl
Zpracování	Odstředění

2.5 Analytická funkce

Opakovatelnost v rámci jednoho běhu byla vypočítána na základě paralelní izolace 12 identických alikvotů vzorků krve. Průměrná výtěžnost DNA byla $5,2 \mu\text{g} \pm 0,3$, což odpovídá variačnímu koeficientu (CV) 6 %. Opakovatelnost mezi jednotlivými běhy byla testována ve dvou nezávislých bězích. V rámci každého běhu byla DNA izolována z jednoho vzorku krve, a to vždy v 6 opakováních. Rozdíl mezi průměrnou výtěžností obou běhů byl $0,2 \mu\text{g}$ DNA, což odpovídá 6 %. Za účelem zjištění opakovatelnosti mezi jednotlivými šaržemi byly společně porovnány tři šarže sad NucleoSpin® Dx Blood. U každé šarže byla gDNA izolována v 6 opakováních. Všechna opakování byla odebrána z jednoho vzorku krve. Průměrná výtěžnost DNA ze šesti preparátů byla 5,2; 4,8 a $5,0 \mu\text{g}$ se směrodatnými odchylkami 0,4; 0,5 a $0,5 \mu\text{g}$. Variační koeficient (CV) průměrné výtěžnosti tří šarží byl 4 %.

Za účelem hodnocení reprodukovatelnosti byla DNA izolována ze vzorků plné krve dvěma pracovníky souběžně. Průměrná výtěžnost ($n = 6$) byla $2,9 \pm 0,3 \mu\text{g}$ a $3,0 \pm 0,2 \mu\text{g}$, což odpovídá variačnímu koeficientu (CV) 9 % a 7 % na šest preparátů. Rozdíl průměrné výtěžnosti u obou pracovníků byl $0,1 \mu\text{g}$.

Příklady diagnostického použití sady NucleoSpin® Dx Blood *in vitro* jsou uvedeny v následujících publikacích:

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 Postupy eluce

DNA se eluuje z kolon **NucleoSpin® Dx Blood Column** pomocí 50 až 200 μL elučního pufru Elution Buffer BE. Celková výtěžnost DNA se zvyšuje s rostoucím elučním objemem, zatímco koncentrace DNA klesá (viz obrázek 1).

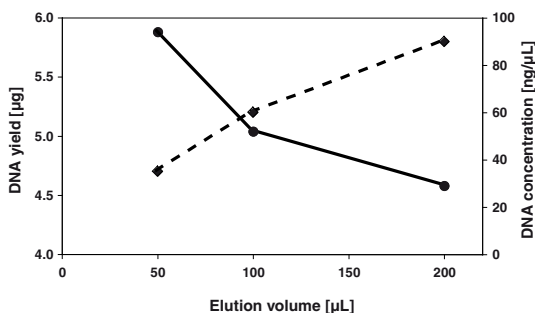
Obvykle lze až 10 μL eluátu použít jako templát v 50 μL směsi PCR, aniž by došlo k ovlivnění funkce PCR. Je doporučeno skladovat eluovanou DNA při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Na většinu následných aplikací nebude mít několik běhů zmrazení a rozmrazení vliv.

Skladování nukleových kyselin

Doporučení:

Krátkodobé skladování (do 24 h): $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$

Dlouhodobé skladování (přes 24 h): $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$



Obrázek 1

Vliv elučního objemu na celkovou výtěžnost DNA (čárkovaná čára) a koncentraci (plná čára). Eluce byla provedena s 50, 100 a 200 μL .

3 Podmínky skladování a příprava pracovních roztoků

Pozor:

- Po obdržení sady zkontrolujte, jestli některá ze součástí není poškozená. Pokud jsou součásti sady, jako např. lahvičky s pufrů nebo blistry, poškozené, obraťte se na technickou podporu a zákaznický servis společnosti MACHEREY-NAGEL či na svého místního distributora.
- Poškozené součásti sady nepoužívejte.
- Po dodání musí být sada **NucleoSpin® Dx Blood** skladována při teplotě 18–25 °C. NENÍ nutné sadu při dodání otevřít a vyjmout jednotlivé součásti k oddělenému skladování.
- Kolony **NucleoSpin® Dx Blood Column** lze používat až do uplynutí data spotřeby uvedeného na krabici sady.

Před zahájením protokolu **NucleoSpin® Dx Blood** si připravte následující:

- **Promývací pufr Wash Buffer B5:** Přidejte uvedený objem etanolu (96–100 %, viz tabulka níže nebo na lahvičce) do koncentráту promývacího pufru **Wash Buffer B5 Concentrate**. Označte štítek lahvičky, aby bylo zřejmé, že byl přidán etanol. Promývací pufr Wash Buffer B5 skladujte při teplotě 18–25 °C až do uplynutí data spotřeby.
- Lyofilizovanou proteinázu **Proteinase K** lze skladovat při teplotě 18–25 °C až do uplynutí data spotřeby, aniž by se snížila její funkce. Před prvním použitím sady přidejte uvedený objem pufru proteinázy **Proteinase Buffer PB**, abyste rozpustili lyofilizovanou proteinázu Proteinase K. Rekonstituovanou proteinázu Proteinase K lze skladovat při teplotě –20 °C po dobu až 6 měsíců, ale pouze do uplynutí data spotřeby.
- Během skladování, zejména při nízkých teplotách, se může v pufrch Buffer B3 a Buffer BW vytvořit bílá sraženina. Tyto sraženiny lze snadno rozpustit inkubací lahvičky při teplotě 70 °C po dobu 5 min před použitím.

NucleoSpin® Dx Blood		
REFERENCE	50 dávek 740899.50	250 dávek 740899.250
Koncentrát promývacího pufru Wash Buffer B5 (Concentrate)	12 mL Přidejte 48 mL etanolu.	50 mL Přidejte 200 mL etanolu.
Proteináza Proteinase K	30 mg Přidejte 1,35 mL pufru proteinázy Proteinase Buffer.	2 × 75 mg Přidejte 3,35 mL pufru proteinázy Proteinase Buffer do každé zkumavky.

4 Bezpečnostní pokyny

Při práci se sadou **NucleoSpin® Dx Blood** používejte vhodné osobní ochranné prostředky (např. laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle). Více informací je k dispozici v příslušných bezpečnostních listech (Material Safety Data Sheets, MSDS, které jsou k dispozici online na adrese <http://www.mn-net.com/msds>).



Upozornění: Guanidin hydrochlorid v pufrch Buffer B3 a Buffer BW může v kombinaci s bělidlem tvořit vysoce reaktivní sloučeniny! Proto nepřidávejte přímo do odpadu po přípravě vzorků bělidlo ani kyselá látka.

Odpad vznikající při používání sady **NucleoSpin® Dx Blood** nebyl testován na přítomnost reziduálního infekčního materiálu. Kontaminace kapalného odpadu reziduálním infekčním materiálem je vysoce nepravděpodobná díky použití silného denaturujícího lytického pufru Lysis Buffer a proteinázy Proteinase K, ale nelze ji zcela vyloučit. Proto je nutné považovat kapalný odpad za infekční a nakládat s ním a likvidovat jej v souladu s místními bezpečnostními předpisy.

4.1 Likvidace

Likvidujte nebezpečné, infekční nebo biologicky kontaminované materiály bezpečným a přijatelným způsobem, který je v souladu se všemi místními předpisy.

5 Purifikace genomové DNA pomocí sady NucleoSpin® Dx Blood

Níže uvedený postup obsahuje pokyny ke zpracování jednoho vzorku krve. Je však možné zpracovat několik vzorků najednou. Jejich počet závisí na kapacitě použité mikroadstředivky.










Před zahájením přípravy:



- Zkontrolujte, jestli byly pufr Buffer B5 a proteináza Proteinase K připraveny podle části 3.
- Zkontrolujte, zda je dostupný 96–100 % etanol (denaturovaný nebo nedenaurovaný) k úpravě podmínek vazby DNA.
- Nastavte inkubátor (např. ohřívací blok) nebo vodní lázeň na teplotu 70 °C.
- Vyrovnejte teplotu vzorků krve s pokojovou teplotou. Zkontrolujte, jestli jsou vzorky správně promíchané.
- Pokud se v lytickém pufru Lysis Buffer B3 nebo pufru Buffer BW vytvořila sraženina, inkubujte pufr při teplotě 70 °C, dokud se sraženina nerozpustí.
- Obecně platí, že se nesmí míchat reagentie a kolony z různých sad a šarží.
- Vyrovnejte teplotu elučního pufru Elution Buffer BE s pokojovou teplotou.
- Nepřidávejte roztok proteinázy Proteinase K přímo do lytického pufru Lysis Buffer B3. Proteináza Proteinase K se musí před přidáním pufru Buffer B3 smíchat se vzorkem krve.
- Všechny kroky odstředování mají být prováděny při pokojové teplotě.

5.1 Přehled protokolu

Dodatečný přehled protokolu:

Než zahájíte postup, pečlivě si přečtěte podrobný protokol (část 5.2).

Lyzace vzorků krve	1	25 µl proteinázy Proteinase K	
	2	200 µl krve	
	3	200 µl pufru B3, promíchání	
	4	RT, 5 min	
	5	70 °C, 10 min, promíchání	
	6	2 000 × g, 1 s	
Úprava podmínek vazby DNA	7	210 µl etanolu, promíchání	
	8	2 000 × g, 1 s	
Navázání DNA	9	Vložení lyzátu	
	10	11 000 × g, 1 min	
	11	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Blood Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	
Promytí křemikové membrány	12	500 µl pufru BW	
	13	11 000 × g, 1 min	
	14	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Blood Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	
	15	600 µl pufru Buffer B5	
	16	11 000 × g, 1 min	
Vysušení křemikové membrány	17	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Blood Column do nové odběrové zkumavky Collection Tube	
	18	11 000 × g, 1 min	

Eluce DNA	19	Přenesení kolony NucleoSpin® Dx Blood Column do eluční zkumavky Elution Tube	
	20	50–200 µl pufru Buffer BE	
	21	11 000 × g, 1 min	

5.2 Postup

- Napipetujte **25 µl roztoku proteinázy Proteinase K** do lyzační zkumavky Lysis Tube (1,5 mL, součástí balení).
- Do lyzační zkumavky Lysis Tube přidejte **200 µl vzorku krve**. Promíchejte.
- Do lyzační zkumavky Lysis Tube přidejte **200 µl pufru Buffer B3** zavřete víko a míchejte intenzivním pulzním vířením po dobu 10 s.
Pufr Buffer B3 a proteinázu Proteinase K nepředmíchávejte!
- Inkubujte při **pokožové teplotě** po dobu **5 min** (± 1 min).
- Lyzační zkumavku Lysis Tube inkubujte při teplotě **70 °C** (± 2 °C) po dobu **10 min** (± 1 min). Po inkubaci promíchejte intenzivním pulzním **vířením** po dobu 5 s.
- Krátce odstředujte** lyzační zkumavku Lysis Tube (přibližně 1 s při 2 000 × g), abyste odstranili kapky z víka (pouze krátké odstředění).
- Ke vzorku přidejte **210 µl etanolu** (96–100%). Zavřete víko a promíchejte pulzním vířením po dobu 5 s.
Zkontrolujte, jestli se etanol a lyzát dobře promíchaly.
- Krátce odstředujte** lyzační zkumavku Lysis Tube (přibližně 1 s při 2 000 × g), abyste odstranili kapky z víka (pouze krátké odstředění).
- Opatrně **vložte celý lyzát** do kolony **NucleoSpin® Dx Blood Column** umístěné v odběrové zkumavce Collection Tube a zavřete víko.
- Odstředujte po dobu 1 min při 11 000 × g.**
Pokud se lyzát nepodaří zcela protáhnout membránou, opakujte odstředování při vyšším tíhovém zrychlení (15 000–20 800 × g po dobu 1 min). Pokud lyzát přesto zcela neprojde membránou, vzorek zlikvidujte a izolaci opakujte s novým materiálem vzorku.
- Umístěte kolonu **NucleoSpin® Dx Blood Column** do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.

- 12** Otevřete kolonu **NucleoSpin® Dx Blood Column** a přidejte do ní **500 µL pufru Buffer BW**. Zavřete víko.

Poznámka: Zkontrolujte, jestli je reziduální lyzát promyt puftrem Buffer BW.

- 13** **Odstřeďte po dobu 1 min při 11 000 × g.**
-

- 14** Umístěte kolonu **NucleoSpin® Dx Blood Column** do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
-

- 15** Otevřete kolonu **NucleoSpin® Dx Blood Column** a přidejte do ní **600 µL pufru Buffer B5**. Zavřete víko.

Poznámka: Zkontrolujte, jestli je reziduální promývací pufr z předchozího kroku promyt puftrem Buffer B5.

- 16** **Odstřeďte po dobu 1 min při 11 000 × g.**
-

- 17** Umístěte kolonu **NucleoSpin® Dx Blood Column** do nové odběrové zkumavky Collection Tube (2 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube s průtokem z předchozího kroku zlikvidujte.
-

- 18** **Odstřeďte po dobu 1 min při 11 000 × g.**

Během tohoto kroku se odstraní reziduální etanol.

- 19** Umístěte kolonu **NucleoSpin® Dx Blood Column** do čisté eluční zkumavky Elution Tube (1,5 mL, součástí balení) a odběrovou zkumavku Collection Tube z předchozího kroku zlikvidujte.
-

- 20** Otevřete kolonu **NucleoSpin® Dx Blood Column** a přidejte **50–200 µL pufru Buffer BE** přímo do středu membrány.
-

- 21** **Odstřeďte po dobu 1 min při 11 000 × g**, aby se eluovala DNA z kolony.
-

6 Dodatek

6.1 Řešení problémů

Problém	Možná příčina a doporučení
Žádná nebo slabá výtěžnost DNA	<p><i>Nízká koncentrace bílých krvinek ve vzorku</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Výtěžnost DNA závisí na počtu bílých krvinek ve vzorku. Ze vzorků krve s nízkým počtem bílých krvinek se získává nízké množství DNA.
	<p><i>Nekompletní lýza vzorku</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Nehomogenní vzorek krve nebo krevní sraženiny ve vzorku: Zkontrolujte, jestli jsou vzorky krve odebírány podle pokynů výrobce zkumavky pro odběr krve. Zkontrolujte, jestli se jako materiál vzorku používá pouze krev, kterou lze snadno přenést pipetováním. V případě potřeby vzorek krve před použitím homogenizujte. Vzorek není důkladně promíchán s proteinázou Proteinase K a lytickým pufrům Lysis Buffer. Směs se musí ihned po přidání lytického pufru Lysis Buffer B3 promíchat intenzivním vířením. Štěpení proteinázou Proteinase K není optimální. Nikdy nepřidávejte proteinázu Proteinase K přímo do lytického pufru Lysis Buffer B3.
	<p><i>Reagencie nebyly použity správně</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Připravujte pufrы a roztok proteinázy Proteinase K podle pokynů (část 3). Před vložením lyzátu do kolony přidejte do lyzátu etanol.
	<p><i>Nevhodné odstředování</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Neprodlužujte dobu a nezvyšujte rychlost odstředování uvedené v kroku 6 a 8. K odstranění kapek z víka používejte pouze krátké odstředění.
	<p><i>Neoptimální eluce DNA z kolony</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Účinnost eluce závisí na objemu elučního pufru Elution Buffer. K dosažení nejvyšší účinnosti eluce použijte 200 μl elučního pufru Elution Buffer. K dosažení nejvyšší koncentrace DNA použijte 50 μl elučního pufru Elution Buffer.
	<p><i>Nehomogenní vzorek krve</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Kryosraženina vzniklá při rozmrazování mražených vzorků může ucpat kolonu NucleoSpin® Dx Blood Column. Pokud jsou takové sraženiny viditelné, vyhněte se jejich aspiraci při vkládání lyzátu do vázací kolony. Sraženiny se mohou tvořit i ve vzorcích čerstvé krve. Zkontrolujte, jestli jsou vzorky správně promíchány. Pokud se kolona během kroku vazby DNA ucpe, opakujte odstředování při vyšším tíhovém zrychlení (15 000–20 800 \times g po dobu 1 min).
Ucpaná vázací kolona DNA	

Problém	Možná příčina a doporučení
Slabá kvalita DNA	<p><i>Reagencie nebyly použity správně</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Připravujte pufr a roztok proteinázy Proteinase K podle pokynů (část 3). Před vložením do kolon přidejte k lyzátu etanol a promíchejte.
	<p><i>Nekompletní lyza vzorku</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Vzorek není důkladně promíchán s roztokem proteinázy Proteinase K a lytickým pufrům Lysis Buffer. Směs se musí ihned po přidání lytického pufru Lysis Buffer promíchat intenzivním vířením. • Štěpení proteinázou Proteinase K není optimální. Nepřidávejte proteinázu Proteinase K přímo do lytického pufru Lysis Buffer B3.
	<p><i>Zpracování starých nebo sražených vzorků krve</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Zkontrolujte, jestli se jako materiál vzorku používá pouze krev, kterou lze snadno přenést pipetováním. V případě potřeby vzorek krve před použitím homogenezujte.
Neoptimální funkce genomové DNA v enzymatických reakcích	<p><i>Přenesení etanolu</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Před elucí DNA nezapomeňte odstranit veškerý etanolvý pufr Buffer B5. Pokud hladina plnění průtoky promývacího pufru Wash Buffer B5 po druhém promývání z jakéhokoli důvodu dosáhne ústí kolony, zlikvidujte průtok, vložte kolonu zpět do odběrové zkumavky Collection Tube a znovu proveďte odstředění. • Eluáty DNA mohou obsahovat stopy etanolu. Nebylo však pozorováno žádné snížení funkce PCR při použití eluátu DNA až do 20 % konečného objemu PCR jako templátu (např. použití 4 µl ze 100 µl eluátu jako templátu ve 20 µl PCR). Maximální procento objemu templátu v PCR se může lišit v závislosti na robustnosti systému PCR a musí být stanoveno uživatelem.
	<p><i>Kontaminace DNA inhibičními látkami</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Pokud připravujete DNA ze starých nebo sražených vzorků krve, zkontrolujte, jestli se jako materiál vzorku používá pouze krev, kterou lze snadno přenést pipetováním. V případě potřeby vzorek krve před použitím homogenezujte.

Kontaktní údaje:

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

6.2 Povinné hlášení

Upozorňujeme, že jakoukoli závažnou událost, která se vyskytne v souvislosti s tímto produktem, je nutné ihned nahlásit výrobci a odpovědnému orgánu členskému státu, ve kterém k události došlo. Evropské kontaktní body vigilance: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en

6.3 Přehled literatury

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 Informace pro objednávky

Produkt	REFERENCE	Velikost balení
NucleoSpin® Dx Blood	740899.50/.250	50/250
NucleoSpin® Dx Virus	740895.50	50
NucleoMag® Dx Pathogen	744215.4	384

Více informací o produktech najdete na adrese www.mn-net.com.

6.5 Vysvětlivky symbolů

 Číslo položky	 Přípustný rozsah teplot pro skladování
 Identifikace šarže	 Datum spotřeby
 Výrobce	 Upozornění: Více informací najdete v uživatelské příručce.
 Diagnostické produkty <i>in vitro</i>	 Nepoužívejte opakovaně.
 Nastudujte si návod k použití.	
 Dostatečné pro tento počet testů: < n >	

6.6 Omezení použitelnosti produktu / záruka

Sada **NucleoSpin® Dx Blood** je generický systém k izolaci a purifikaci genomové DNA ze vzorků lidské plné krve k následným diagnostickým účelům *in vitro*.

Tuto sadu lze použít s následnými aplikacemi, které zahrnují enzymatickou amplifikaci a detekci DNA (např. PCR). Jakékoli diagnostické výsledky získané z DNA izolované pomocí sady **NucleoSpin® Dx Blood** společně s dalšími diagnostickými analýzami je nutné interpretovat s ohledem na další klinické i laboratorní nálezy. Sada **NucleoSpin® Dx Blood** nevytváří žádné diagnostické výsledky. Je výhradní odpovědností uživatele, aby tuto sadu validoval společně s následnými diagnostickými analýzami *in vitro*. POUZE produkty společnosti MACHEREY-NAGEL označené jako IVD jsou vhodné k diagnostickému použití *in vitro*.

Bezpečnostní pokyny najdete v příslušné kapitole uživatelské příručky. Sadu **NucleoSpin® Dx Blood** se smí používat výhradně ve vhodných podmínkách pro testování, tzn. ve vhodném laboratorním prostředí.

Uživatel je odpovědný za jakoukoli a veškerou škodu, která vznikne aplikací sady **NucleoSpin® Dx Blood** jiným způsobem, než je popsáno v uživatelské příručce.

Tento produkt společnosti MACHEREY-NAGEL je dodáván společně s dokumentací, která obsahuje jeho specifikace a další technické informace. Společnost MACHEREY-NAGEL zaručuje, že produkt splňuje uvedené specifikace. Závazek společnosti MACHEREY-NAGEL a nárok zákazníka je omezen na bezplatnou výměnu produktů v případě, že nesplňují uvedené záruky. Na produkt se také vztahují obecné obchodní podmínky společnosti MACHEREY-NAGEL, které jsou vytištěny na ceníku. Pokud si přejete jejich kopii, kontaktujte nás.

Společnost MACHEREY-NAGEL neposkytuje záruku na škody nebo závady vzniklé při přepravě produktu a manipulaci s ním (mimo transportní pojištění pro zákazníky) nebo v důsledku nehody či nesprávného použití tohoto produktu ani za ně nenesou odpovědnost. Totéž platí pro závady produktů či součástí, které nevyrobila společnost MACHEREY-NAGEL, nebo pro škody vzniklé kvůli takovýmto produktům či součástem jiných výrobců než společnosti MACHEREY-NAGEL.

Společnost MACHEREY-NAGEL neposkytuje žádné další záruky žádného druhu a SPECIFICKY VYLUČUJE JAKÉKOLI JINÉ ZÁRUKY JAKÉHOKOLI DRUHU, PŘÍMÉ ČI NEPŘÍMÉ, VYŘČENÉ ČI NAZNAČENÉ, VČETNĚ ZÁRUK VHDNOSTI, REPRODUKTIVITY, ODOLNOSTI, VHODNOSTI KE KONKRÉTNÍMU ÚČELU NEBO POUŽITÍ, PRODEJNOSTI, STAVU NEBO JAKÉKOLI JINÉ ZÁLEŽITOSTI TÝKAJÍCÍ SE PRODUKTŮ SPOLEČNOSTI MACHEREY-NAGEL.

Společnost MACHEREY-NAGEL není v žádném případě povinná poskytovat náhrady za jakékoli jiné škody, přímé či nepřímé, vedlejší, kompenzační, předvídatelné, následné nebo zvláštní (včetně ztráty použitelnosti, výnosu či zisku), ať už se zakládá na záruce, kontraktu, deliktu (včetně zanedbání), nebo čistě odpovědnosti vyplývající ze spojení s prodejem produktů společnosti MACHEREY-NAGEL nebo jejich neschopnosti fungovat v souladu s uvedenými specifikacemi. Tato záruka je exkluzivní a společnost MACHEREY-NAGEL neposkytuje žádné další záruky, vyřčené nebo naznačené.

Zde uvedená záruka a data, specifikace a popis tohoto produktu společnosti MACHEREY-NAGEL uvedené v publikovaných katalozích společnosti MACHEREY-NAGEL a dokumentaci příslušných produktů jsou výhradními dokumenty společnosti MACHEREY-NAGEL, které se vztahují k tomuto produktu a jeho záruce. Žádné další výroky, písemné či ústní, od zaměstnanců, agentů nebo zástupců společnosti MACHEREY-NAGEL, kromě písemných vyjádření podepsaných řádně autorizovaným zástupcem společnosti MACHEREY-NAGEL, nejsou platné. Zákazníci se na ně nesmí spoléhat a nejsou součástí prodejní smlouvy nebo této záruky.

Informace o produktech se mohou měnit. Proto se obraťte na tým technického servisu a požádejte o nejaktuálnější informace o produktech společnosti MACHEREY-NAGEL. Chcete-li získat obecné vědecké informace, můžete kontaktovat také svého místního distributora. Aplikace uvedené v dokumentech společnosti MACHEREY-NAGEL slouží pouze pro informační účely. Společnost MACHEREY-NAGEL nezaručuje, že veškeré aplikace byly testovány v laboratořích společnosti MACHEREY-NAGEL pomocí produktů společnosti MACHEREY-NAGEL. Společnost MACHEREY-NAGEL nezaručuje správnost žádné z těchto aplikací.

Poslední aktualizace: Duben 2022 / Rev. 05

Důvod revize:

Přidání dat o analytické a klinické funkci do kapitoly 2.5. Reference pro nové jazyky uživatelské příručky (kapitola 1.3).

Ochranné známky:

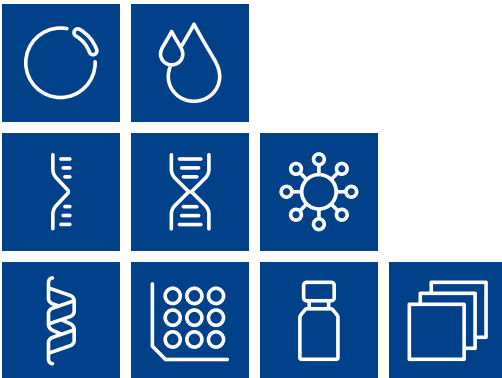
BD VACUETTE je ochranná známka společnosti BD.

NucleoSpin® je ochranná známka společnosti MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG.

S-Monovette je registrovaná ochranná známka společnosti Sarstedt.

Vacurette je ochranná známka společnosti GREINER BIO-ONE.

Všechny použité názvy a označení mohou být značkami, ochrannými známkami nebo registrovanými označeními svých konkrétních vlastníků – i v případě, že se nejedná o žádné specifické označení. Zmínění produktů a značek má pouze informativní charakter (nejedná se o porušení ochrany ochranné známky a značky a nelze ho považovat za doporučení nebo hodnocení). U těchto produktů nebo služeb nemůžeme poskytnout žádné garance ohledně výběru, účinnosti nebo funkce.



Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

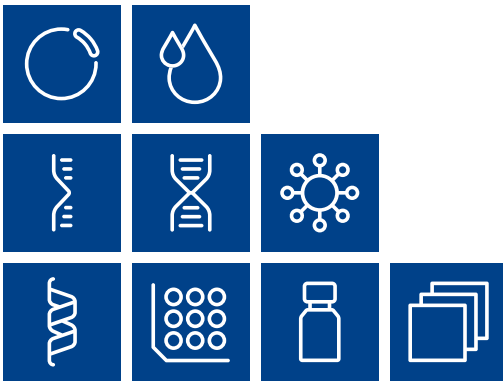
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



 <p>TÜV Rheinland CERTIFIED</p>	<p>Management System EN ISO 13485:2016 ISO 9001:2015</p>	
	<p>www.tuv.com ID 0000056401</p>	

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

DE +49 24 21 969-0 info@mn-net.com

CH +41 62 388 55 00 sales-ch@mn-net.com

FR +33 388 68 22 68 sales-fr@mn-net.com

US +1 888 321 62 24 sales-us@mn-net.com