

Instrukcja

Viral DNA/RNA

Zestaw do izolacji wirusowego DNA i RNA z próbek krwi, wymazów, śliny i aspiratów z dróg oddechowych.

numer katalogowy	wielkość
034-50	50 izolacji
034-100	100 izolacji
034-200	200 izolacji

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępowania od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Uwaga. Do izolacji RNA pod kątem diagnostyki koronawirusów polecamy także specjalistyczny zestaw CoV RNA, nr kat. 034C-50, 034C-200.

Spis treści

Specyfikacja	3
Skład	3
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	3
Niezbędne	3
Opcjonalne	3
Ważne informacje	3
Przygotowanie materiału	4
Krew	4
Wymazówki bez podłoża transportowego	4
Wymazówki z podłożem transportowym	4
Aspiraty z dróg oddechowych lub ślina	5
Protokół izolacji	5
Informacje Bezpieczeństwa	7

Specyfikacja

format	minikolumna
pojemność złoza	10 µg DNA / 50 µg RNA
wielkość próbki	- do 350 µl krwi - wymazówka z pobraną próbką 100 µl śliny lub aspiratu z dróg oddechowych
objętość elucji	od 30 µl
roztwór elucyjny	woda ultraczysta

Skład

składnik	50 izolacji	100 izolacji	200 izolacji	przechowywanie
Minikolumny	50 szt.	100 szt.	200 szt.	temp. pokojowa
Probówki 2 ml	100 szt.	200 szt.	400 szt.	temp. pokojowa
A1 roztwór płuczący	100 ml	200 ml	400 ml	temp. pokojowa
R9F roztwór	35 ml	70 ml	130 ml	temp. pokojowa
Izopropanol	15 ml	30 ml	60 ml	temp. pokojowa
Woda ultraczysta	8 ml	8 ml	15 ml	temp. pokojowa

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Jałowe probówki 1,5 ml typu Eppendorf
- Worteks

Opcjonalne

- Mikrowirówka
- Jałowe probówki 2 ml typu Eppendorf

Ważne informacje

W przypadku pracy z RNA używać plastikowych materiałów zużywalnych wolnych od RNaz. Pracować sterylnie, używać jednorazowych rękawiczek i zmieniać je każdorazowo, kiedy wymaga tego dobra praktyka laboratoryjna.

Przygotowanie materiału

Krew

1. Przenieść do **350 µl krwi** do probówki 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
2. Wirować przez **2 min** przy **14 000 RPM**.
3. Przenieść **100 µl** supernatantu do **nowej probówki 1,5 ml** typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
4. Dodać po **400 µl** roztworu **R9F**.
5. Wortexować przez **10 s**.
6. Próbkę pozostawić na **5 min** w **temp. pokojowej**.
7. Prześć do punktu 1. protokołu izolacji.

Wymazówki bez podłoża transportowego

1. Odciąć część wymazówki z pobraną próbką i umieścić ją w probówce 2 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
Uwaga. Część wymazówki z pobraną próbką powinna całkowicie mieścić się w probówce.
2. Dodać **600 µl** roztworu **R9F**.
Uwaga. Część wymazówki z pobraną próbką powinna być całkowicie zanurzona w buforze.
3. Wortexować przez **10 s**.
4. Próbkę pozostawić na **10 min** w **temp. pokojowej**. Podczas inkubacji próbki kilkakrotnie wortexować.
5. Przenieść **500 µl** próbki do **nowej probówki 1,5 ml** typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
6. Prześć do punktu 1. protokołu izolacji.

Wymazówki z podłożem transportowym

1. Pobrać **150 µl** podłoża transportowego i przenieść do probówki 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
2. Dodać **600 µl** roztworu **R9F**.
3. Wortexować przez **10 s**.
4. Próbkę pozostawić na **10 min** w **temp. pokojowej**.
5. Przenieść **500 µl** próbki do **nowej probówki 1,5 ml** typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
6. Prześć do punktu 1. protokołu izolacji.

Aspiraty z dróg oddechowych lub ślina

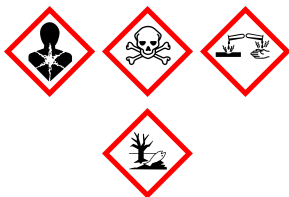
1. Przenieść po **100 µl** aspiratu lub śliny do probówki 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
2. Dodać **400 µl** roztworu **R9F**.
3. Worteksować przez **10 s**.
4. Próbkę pozostawić na **10 min** w **temp. pokojowej**. Podczas inkubacji próbki kilkakrotnie worteksować.
5. Przejść do punktu 1. protokołu izolacji.

Protokół izolacji

1. Dodać po **250 µl** izopropanolu.
2. Zamknąć probówkę i wymieszać przez kilkakrotne odwracanie probówki.
3. Nanieść całość na minikolumnę.
4. Wirować przez **1 min** przy **14 000 RPM**.
5. Umieścić minikolumnę w **nowej** probówce **2 ml** (w zestawie).
6. Dodać po **700 µl** roztworu płuczającego **A1**.
7. Wirować przez **1 min** przy **14 000 RPM**.
8. Umieścić minikolumnę w **nowej** probówce **2 ml** (w zestawie).
9. Dodać po **700 µl** roztworu płuczającego **A1**.
10. Wirować przez **1 min** przy **14 000 RPM**.
11. Usunąć przesącz z probówki i ponownie umieścić w niej minikolumnę.
12. Dodać po **300 µl** roztworu płuczającego **A1**.
13. Wirować przez **2 min** przy **14 000 RPM**.

14. Umieścić minikolumnę w jałowej probówce **1,5 ml** typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
15. Na złoża na dnie minikolumn nanieść po **30-60 µl wody ultraczystej**.
Uwaga. Im mniejsza objętość wody, tym elucja jest mniej wydajna, ale stężenie RNA w eluacie może być większe.
16. Próbkę pozostawić na **3 min** w **temp. pokojowej**.
17. Wirować przez **1 min** przy **14 000 RPM**.
18. Usunąć minikolumny, a oczyszczone DNA i RNA przechowywać w temp. **-20 °C** do czasu dalszych analiz.

Informacje Bezpieczeństwa



NIEBEZPIECZEŃSTWO

R9F roztwór

H301+H311+H331 Działa toksycznie po połknięciu, w kontakcie ze skórą lub w następstwie wdychania.
 H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
 H341 Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.
 H373 Może powodować uszkodzenie narządów poprzez długotrwałe lub wielokrotne narażenie.
 H411 Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
 P261 Unikać wdychania pyłu.
 P273 Unikać uwolnienia do środowiska.
 P280 Stosować rękawice ochronne/ odzież ochronną/ ochronę oczu/ ochronę twarzy.
 P301+P310 W przypadku połknięcia: natychmiast skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut.
 Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.
 P310 Natychmiast skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

A1 roztwór płuczący

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
 H319 Działa drażniąco na oczy.
 H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
 P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.
 P261 Unikać wdychania par.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut.
 Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

Izopropanol

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
 H319 Działa drażniąco na oczy.
 H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
 P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.
 P261 Unikać wdychania par.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut.
 Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

