

# **ePure Forensic DNA Extraction Kit (E2010)**

## **Návod k použití (Příručka)**



**Verze: 1.1**



**48**



**Ecoli Dx, s.r.o.**  
**IČO: 10707409**  
Purkyňova 74/2  
110 00 Praha 1  
Česká republika



# Obsah

Použití.....	3
Úvod .....	3
Obsah soupravy a skladování .....	4
Požadovaný materiál, který není součástí soupravy.....	5
Varování a bezpečnostní opatření .....	5
Princip izolace .....	7
Před zahájením.....	8
Příprava vzorku .....	8
Postup izolace pomocí přístroje ePure a MagPurix.....	12
Izolační protokol - série MagPurix®.....	12
Izolační protokol - ePure a série MagPurix® EVO .....	13
Řešení problémů.....	16
Související produkty .....	17
Omezená záruka na produkt .....	18
Historie revizí .....	18

# Použití

Souprava ePure Forensic DNA Extraction Kit poskytuje kompletní sadu reagensů a spotřebního materiálu pro automatickou izolaci DNA z plné krve, zaschlé krve, vlasových kořínků, tkání, slin a dalších forenzních vzorků systémem ePure / MagPurix.

Produkt je určen k použití profesionálními uživateli, jako jsou technici a lékaři vyškolení v technikách molekulární biologie.

## Úvod

Název produktu	ePure Forensic DNA Extraction Kit
Katalogové číslo	E2010
Přehled o produktu	Souprava ePure Forensic DNA Extraction Kit je navržena k izolaci DNA z plné krve, zaschlé krve, vlasových kořínků, tkání, slin a dalších forenzních vzorků. Souprava využívá jedinečnou magnetickou technologii ZiBeads® a v kombinaci s automatickými přístroji řady ePure / MagPurix®. Konečný produkt je vhodný pro širokou škálu diagnostických a výzkumných aplikací, jako je sekvenování, genotypování, testy qPCR, ddPCR a NGS.
Aplikovatelné pro model přístroje	Všechny přístroje ePure a MagPurix®
Název protokolu na displeji přístroje	2010 FORENSIC DNA
Čas zpracování	ePure: 45 minut MagPurix® 12: 40-60 minut MagPurix® 24: 40-65 minut MagPurix® EVO: 40-45 minut

## Obsah soupravy a skladování

Přeprava a skladování	Souprava je zasílána při pokojové teplotě. Po dodání skladujte soupravu při pokojové teplotě. Při správném skladování jsou všechny součásti soupravy stabilní až do data expirace uvedeného na krabičce soupravy.	
Obsah soupravy	Níže jsou uvedeny komponenty dodávané v soupravě. Dostatečné množství reagensů pro provedení 48 izolací.	
	Obsah	Množství
	<b>1</b> Reagenční kazeta	48 pcs (6x8)
	<b>2</b> Reakční komůrka	48 pcs (6x8)
	<b>3</b> Držák špiček	48 pcs (6x8)
	<b>4</b> Propichovací kolík	50 pcs
	<b>5</b> Špička s filtrem	50 pcs
	<b>6</b> Zkumavka na vzorek (2 mL)	50 pcs
	<b>7</b> Eluční zkumavka (1.5 mL)	50 pcs
	Kolonka s filtrem	50 pcs
	Sběrná zkumavka	50 pcs
	Proteinase K, 10 mg / mL (1 mL)	1 pc
	BL2 pufr (25 mL)	1 pc
	Nálepka s čárovým kódem	50 pcs

Obsah reagenční kazety

Každá reagenční kazeta má 10 pozic a 10 uzavřených jamek.  
Pozice 1-10 obsahují reagenzie pro tento protokol.

Reagenzie	Číslo jamky
Empty	1
Lyzační pufr 3	2
Vazebný pufr 1	3
Roztok s magnetickými kuličkami	4
Promývací pufr 1B	5
Promývací pufr A	6
Promývací pufr B	7
Eluční pufr 1	8
Eluční pufr 2	9
Prázdná	10



## Požadovaný materiál, který není součástí soupravy

K provedení izolace je zapotřebí následující obecné laboratorní vybavení a spotřební materiál. Veškeré laboratorní vybavení by mělo být instalováno, kalibrováno, provozováno a udržováno dle doporučení výrobce. Následující tabulka zobrazuje požadované a speciální vybavení spolu se seznamem spotřebního materiálu.

Položka
Přístroj ePure nebo MagPurix®
Mikrocentrifugační zkumavky 1.5 nebo 2.0 mL
Pipety a špičky s filtrem
Fosfátový pufr (PBS, může být vyžadován pro naředění vzorků)
Volitelně: DNase-free RNáza A (pro minimalizování obsahu RNA), spotřební materiál

## Varování a bezpečnostní opatření

Pouze pro in vitro diagnostické použití. Před použitím soupravy si pozorně přečtěte všechny pokyny. Použití tohoto produktu by mělo být omezeno na vyškolený personál v technikách izolace DNA. Pro dosažení optimálních výsledků je nutné přísné dodržování uživatelské příručky. Je třeba věnovat pozornost datům expirace vytištěným na krabici a štítcích všech komponent. Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby použitelnosti.

Při práci s chemikáliemi vždy noste vhodný laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace naleznete v příslušných bezpečnostních listech. Ty jsou k dispozici online v pohodlném a kompaktním formátu PDF na adrese <https://www.biolife-sro.cz>.

- Nepoužívejte soupravu, pokud je některý spotřební materiál deformovaný nebo je poškozena kartridž, nebo pokud nebyly dodrženy podmínky přepravy a skladování dle návodu k použití.
- Při nedodržení pracovních podmínek může dojít k ovlivnění funkcí soupravy a získané výsledky nemusí být validní.
- V laboratorních pracovištích nejezte, nepijte, nekuřte, nepoužívejte kosmetiku a nemanipulujte s kontaktními čočkami.
- Všechny vzorky a nepoužitá činidla zlikvidujte v souladu s místními předpisy.
- Vzorky by měly být považovány za potenciálně infekční a mělo by se s nimi manipulovat v biologickém boxu v souladu s příslušnými postupy biologické bezpečnosti.
- Vyčistěte a dezinfikujte všechny rozlité vzorky nebo činidla pomocí dezinfekčního prostředku, například 0,5

% chlornanu sodného nebo jiného vhodného dezinfekčního prostředku.

- Zamezte kontaktu vzorků a činidel s kůží, očima a sliznicemi. Při kontaktu s těmito roztoky okamžitě opláchněte zasažené místo vodou a v případě potřeby desinfikujte, či vyhledejte lékařskou pomoc.
- Při dodržení podmínek přepravy, provozu a skladování nehrozí nebezpečí výbuchu a vznícení.
- Izolační souprava je určena k jednorázovému použití pro izolaci na automatickém izolátoru ePure na počet vzorků 48. Soupravu používejte výhradně k určenému účelu.
- Jakákoliv závažná nežádoucí příhoda, ke které došlo v souvislosti s používáním kitu, musí být hlášena výrobci EcoliDx a písemně oznámena Státnímu ústavu pro kontrolu léčiv.
- V případě poruchy soupravy nebo zhoršení její funkce, které mohou ohrozit jeho funkční způsobilost, se musí souprava přestat používat a neprodleně kontaktovat výrobce.



UPOZORNĚNÍ: NEPOUŽÍVEJTE bělidla nebo kyselé roztoky přímo do odpadu z přípravy vzorku.

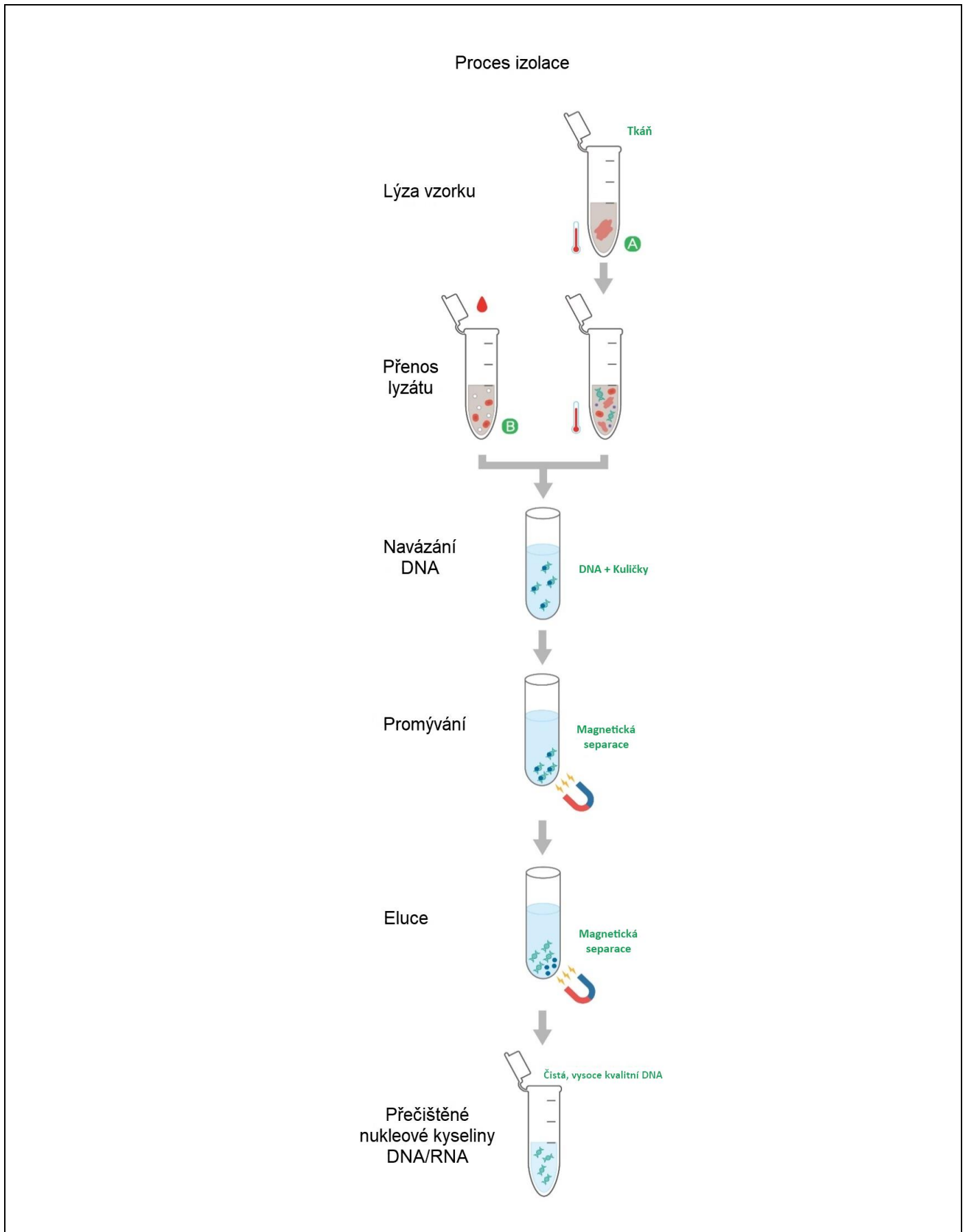
## Kontrola kvality

V souladu s ISO certifikovaným systémem managementu kvality EcoliDx je každá souprava testována podle předem stanovených specifikací, aby byla zajištěna stálá kvalita produktu.

Pro posouzení shody byly dále použity a dodrženy následující technické normy:

- |                  |   |
|------------------|---|
| ČSN EN ISO 13485 | Zdravotnické prostředky – Systém managementu kvality – Požadavky pro účely předpisů |
| ČSN EN ISO 14971 | Zdravotnické prostředky – Aplikace řízení rizika na zdravotnické prostředky         |

# Princip izolace



- A Přeneste vzorek přímo do izolačního procesu
- B Před izolací je prováděna určitá předúprava vzorku.

# Před zahájením

## Příprava vzorku

Postup izolace je optimalizován pro odpovídající hodnotu lidské plné krve, vyschlé krve, vlasových kořínků, tkání, slin a dalších forenzních vzorků.

Plná krev (čerstvá/mražená)	POZNÁMKA: Chcete-li extrahovat DNA ze vzorků plné krve, vyberte ePure Blood DNA Extraction Kit 200 (E2001)
Sražená / zaschlá krev	<ol style="list-style-type: none"><li>Odřízněte materiál obsahující krev, přeneste vzorek do zkumavky.</li><li>Ke vzorku přidejte 400 µl pufru BL2 a 20 µl Proteinázy K.</li><li>Inkubujte při 56 °C po dobu 15 minut, během inkubace několikrát promíchejte na vortexu nebo vložte vzorek do termomixéru.</li><li>Přeneste veškerý vzorek do filtrační kolony ve zkumavce na vzorky.</li><li>Krátce odstředte při 500 x g, 1 minutu, aby se shromáždil vzorek do sběrné zkumavky.</li><li>Přeneste 400 µl do zkumavky na vzorky.</li></ol>
Forenzní stěry z povrchů a vzorků	<ol style="list-style-type: none"><li>Výtěrový tampon nebo štěteček nechte po odběru schnout na vzduchu alespoň 2 hodiny.</li><li>Opatrně odřízněte nebo odlomte koncovou část tamponu nebo kartáčku do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky pomocí vhodného nástroje (např. nůžky).</li><li>Ke vzorku přidejte 200-400 µl pufru BL2.</li><li>Přidejte 20 µl proteinázy K, vortexujte po dobu alespoň 10 sekund.</li><li>*Pokud zpracováváte vzorky ze štětečku, zkumavku krátce odstředte (při 10 000 x g po dobu 30 sekund), aby se štěteček usadil na dně zkumavky.</li><li>Inkubujte při 56 °C po dobu 15 minut, během inkubace několikrát promíchejte na vortexu nebo vložte vzorek do termomixéru.</li><li>Přefiltrujte lyzát pomocí filtrační kolony, abyste odstranili nečistoty.</li><li>Krátce odstředte při 500 x g, 1 minutu, aby se shromáždil vzorek do sběrné zkumavky.</li><li>Přeneste 200-400 µl do zkumavky se vzorkem.</li></ol>
Vlasy s koříny	Metoda 1 <ol style="list-style-type: none"><li>Vložte vzorek vlasů do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky</li><li>Ke vzorku přidejte 200 µl pufru BL2.</li><li>Přidejte 20 µl Proteinázy K a 10 µl 1M roztoku DTT* a důkladně promíchejte na vortexu po dobu alespoň 10 sekund.</li><li>Inkubujte při 56 °C po dobu 15 minut až 6 hodin, několikrát promíchejte na vortexu během inkubace nebo umístěte vzorek do termomixéru.</li></ol>



- 
- e. (volitelně) Přidejte dalších 10 µl proteinázy K a 10 µl DTT a inkubujte při 56 °C, dokud se vzorky vlasů zcela nerozpustí.
  - f. Stočte zkumavku k odstranění tekutiny z horní části zkumavky.
  - g. Předfiltrujte lyzát pomocí filtrační kolony, abyste odstranili zbytkové nečistoty.
  - h. Krátce odstředte při 500 x g, 1 minutu, aby se shromáždil vzorek do sběrné zkumavky.
  - i. Přeneste 200 µl do zkumavky na vzorky.
- \*Před zpracováním protokolu připravte 1 M roztok DTT (1 M je asi 15 % DTT (m/v)).

#### Metoda 2

- a. Vložte vzorek vlasů do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky.
- b. Ke vzorku přidejte 200 µl pufru BL2.
- c. Přidejte 20 µl proteinázy K, důkladně promíchejte na vortexu po dobu alespoň 10 sekund.
- d. Inkubujte při 56 °C alespoň 15 minut nebo až přes noc, během inkubace několikrát promíchejte na vortexu nebo vložte vzorek do termomixéru.
- e. Stočte zkumavku k odstranění tekutiny z horní části zkumavky.
- f. Předfiltrujte lyzát pomocí filtrační kolony, abyste odstranili zbytkové nečistoty.
- g. Krátce odstředte při 500 x g, 1 minutu, aby se shromáždil vzorek do sběrné zkumavky.
- h. Přeneste 200 µl do zkumavky na vzorky.

---

#### Lidské tkáně

- a. Vložte vzorek tkáně do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky.
- b. Ke vzorku přidejte 200-400 µl pufru BL2 a 20 µl Proteinázy K, důkladně promíchejte vortexováním po dobu 10 sekund.
- c. Inkubujte při teplotě 56 °C po dobu alespoň 2 hodin, \* během inkubace několikrát promíchejte vortexem nebo vložte vzorek do termomixéru.
- d. \*Inkubace po delší dobu (např. přes noc) neovlivňuje extrakci nukleové kyseliny.
- e. Stočte zkumavku k odstranění tekutiny z horní části zkumavky.
- f. Předfiltrujte lyzát pomocí filtrační kolony, abyste odstranili zbytkové nečistoty.
- g. Krátce odstředte při 500 x g, 1 minutu, aby se shromáždil vzorek do sběrné zkumavky.
- h. Přeneste 200-400 µl do zkumavky se vzorkem.

---

#### Sliny

- a. Vložte až 50 µl slin do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky.
  - b. Ke vzorku přidejte 200 µl pufru BL2.
  - c. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně zvortexujte po dobu 10 sekund.
-

	<ul style="list-style-type: none"> <li>d. Inkubujte při 56 °C po dobu 15 minut, během inkubace několikrát promíchejte na vortexu nebo vložte vzorek do termomixéru.</li> <li>e. Stočte zkumavku k odstranění tekutiny z horní části zkumavky.</li> <li>f. Přeneste 200 µl do zkumavky na vzorky.</li> </ul>
Skvrny ze spermií	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Umístěte forenzní vzorek do 1,5ml centrifugační zkumavky.</li> <li>b. Ke vzorku přidejte 200-400 µl pufru BL2.</li> <li>c. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně zvortexujte po dobu 10 sekund.</li> <li>d. Inkubujte při 56 °C po dobu 15 minut, během inkubace několikrát promíchejte na vortexu nebo vložte vzorek do termomixéru.</li> <li>e. Zkumavku krátce stočte, abyste odstranili kapky z vnitřku víčka.</li> <li>f. Předfiltrujte lyzát pomocí filtrační kolony, abyste odstranili nečistoty a hlen.</li> <li>g. Krátce odstředte při 500 x g, 1 minutu, aby se shromáždil vzorek do sběrné zkumavky.</li> <li>h. Přeneste 200-400 µl do zkumavky se vzorkem.</li> </ul>
Žvýkačka	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Vložte vzorek žvýkačky do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky.</li> <li>b. Ke vzorku přidejte 200 µl pufru BL2.</li> <li>c. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně zvortexujte po dobu 10 sekund.</li> <li>d. Inkubujte při 56 °C po dobu 15 minut, během inkubace několikrát promíchejte na vortexu nebo vložte vzorek do termomixéru.</li> <li>e. Zkumavku krátce stočte, abyste odstranili kapky z vnitřku víčka.</li> <li>f. Přeneste 200-400 µl do zkumavky se vzorkem.</li> </ul>
Nedopalky cigaret	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Vložte nedopalek cigarety do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky.</li> <li>b. Ke vzorku přidejte 200 nebo 400 µl pufru BL2.</li> <li>c. (Zkontrolujte, zda vzorek absorboval pufr BL2, pokud je potřeba, přidejte ke vzorku další BL2 pufr).</li> <li>d. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně vortexujte po dobu 10 sekund.</li> <li>e. Inkubujte při 56 °C po dobu 15 minut, během inkubace několikrát promíchejte na vortexu nebo vložte vzorek do termomixéru.</li> <li>f. Zkumavku krátce stočte k usazení tekutiny z horní části zkumavky.</li> <li>g. Přeneste 200 µl do zkumavky na vzorky.</li> </ul>
Známky, obálky	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Ke vzorku přidejte 200-400 µl pufru BL2. (Zkontrolujte, zda vzorek absorboval pufr BL2, pokud je potřeba, přidejte ke vzorku další BL2 pufr).</li> <li>b. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně vortexujte po dobu 10 sekund.</li> <li>c. Inkubujte při 56 °C po dobu 15 minut, během inkubace několikrát vortexujte nebo umístěte vzorek do termomixéru.</li> </ul>

- d. Zkumavku krátce stočte k odstranění tekutiny z horní části zkumavky.  
e. Přeneste 200-400 µl do zkumavky se vzorkem

**Poznámka:**

Kvalita DNA se časem nebo po opakovaných cyklech zmrazení - rozmrazení snižuje. Pro delší dobu skladování je třeba vzorky zmrazit na -20 °C nebo nižší a vyvarovat se opakování zmrazování a rozmrazování. Vzorky rozmrazte při pokojové teplotě (15-25°C) a ihned po rozmrznutí vzorek zpracujte. Vzorek po rozmrazení pokud možno **znovu nezmrazujte**. Pokud je ve vzorku viditelná precipitace, odstředějte při 6800 x g po dobu 3 minut a přeneste supernatant do nové zkumavky, aniž byste narušili sraženinu. Ihned začněte práci se vzorkem.

Navrhovaný výchozí materiál a eluční objem pro každou izolaci nukleových kyselin.

Typ vzorku	Výchozí materiál vzorku	Eluční objem
Plná krev (čerstvá nebo zmrazená)	100-400 µl	ePure 50-200 µl (Magpurix 50-300 µl)
Sražená / suchá krev	400 µl / 3 odběrové karty* * Pomocí jednootvorového děrovače odeberte vzorek o průměru 3 mm ze zaschlé skvrny krve.	
Forenzní stěry z povrchů a vzorků	200-400 µl	
Vlasy s kořínky	100-400 µl / / dva nebo tři 0,5-1 cm vzorky vytrhaných vlasů, části včetně vlasových váčků	
Lidské tkáně	100-400 µl / až do 40 mg tkáňe	
Sliny	100-400 µl / 50 µl nebo více objemu slin	
Skvrny ze spermií	100-400 µl / 5-10 µl nebo 1 cm <sup>2</sup> forenzního vzorku	
Žvýkačka	200-400 µl / up to 40 mg of žvýkačky nakrájené na malé kousky	
Nedopalky cigaret	200-400 µl / přibližně 1 cm <sup>2</sup> papíru od konce cigarety nebo filtr	
Známky, obálky	200-400 µl / a 0.5-2.5 cm <sup>2</sup> kus poštovní známky popř. obálky	

# Postup izolace pomocí přístroje ePure a MagPurix

## Postup práce pro ePure a Magpurix

Umístěte reagenční kazetu a spotřební plast do přístroje ePure a Magpurix

Vyberte protokol a nastavte podmínky

Nastavte pracovní stůl, postupujte dle informačních zpráv na obrazovce

Zahajte běh protokolu

Odeberte eluát \*

UV dekontaminace

\* Výstup záznamu (volitelně)

Poznámka: Pokud není uvedeno jinak, proveďte všechny kroky při pokojové teplotě (20–25 ° C).

## Izolační protokol - série MagPurix®

1	Zapněte přístroj	a. Zapněte přístroj vypínačem na ON – a vyčkejte a spuštění obrazovky.
2	Vložte nový jednorázový plast a reagenční kazetu	a. Otevřete dvířka a vyjměte stojánek na vzorky z přístroje. b. Vložte <b>1</b> Reagenční kazetu a potřebný jednorázový plast ( <b>2</b> Reakční komůrka, <b>3</b> Držák špiček, <b>4</b> Propichovací kolíky, <b>5</b> Špičky s filtrem a další součásti, pokud jsou přítomny v soupravě, která má být použita). c. Umístěte <b>6</b> Zkumavky na vzorek a <b>7</b> Eluční zkumavky do stojánku pro vzorky.
3	Přeneste vzorky do přístroje	a. Přeneste příslušné množství vzorku do zkumavek pro vzorky umístěné ve stojánku na vzorky. b. Vložte stojánek na vzorky zpět do přístroje a zavřete dvířka.
4	Nastavení programu	a. Naskenujte čárové kódy protokolu a vyberte protokol izolace, objem vzorku a eluce.
5	Start izolace	a. Postupujte podle pokynů na obrazovce a před spuštěním programu zkontrolujte, zda jsou dokončeny všechny kroky. b. Stiskněte “ENTER” a zahajte experiment. Přístroj provede automaticky program protokolu až do dokončení celého procesu.


- c. Na konci běhu (12 pozic přibližně 40-60min, 24 pozic 40-65min), přístroj krátce zapíská.


- 6** Odebrání elučních zkumavek
- a. Otevřete dvířka přístroje.
- b. Odeberte eluční zkumavky obsahující vyizolované nukleové kyseliny.
- c. Vyizolované nukleové kyseliny jsou připraveny k okamžitému použití. Před prováděním následných analýz skladujte vyizolované nukleové kyseliny při teplotě 4 °C (krátkodobě, méně než 10 dní) nebo v alikvotách při -70 °C (dlouhodobě).
- d. Zlikvidujte použité reagenční kazety, veškerý jednorázový plast do biohazardního odpadu. \***Reagenční kazety nepoužívejte opakovaně.**
- e. Pokud přístroj nepoužíváte, umístěte stojánek na vzorky zpět na pracovní plochu přístroje, zavřete dvířka přístroje a stiskněte na 2 sekundy tlačítko „Start“, abyste se dostali do „režimu spánku“. Pokud nebudete přístroj delší dobu používat, vypněte napájení.

## Izolační protokol - ePure a série MagPurix® EVO

- 1** Zapněte přístroj
- a. Zapněte přístroj přepínačem na ON – a vyčkejte na spuštění obrazovky
- b. Přihlašte se a zobrazte domovskou stránku
- 2** Vložte nový jednorázový plast a reagenční kazety
- a. Otevřete dvířka a vyjměte stojánek na vzorky z přístroje.
- b. Otevřete víko držáku na špičky.
- c. Vložte **1** Reagenční kazetu a potřebný jednorázový plast (**2** Reakční komůrku, **3** Držák špičky, **4** Propichovací kolíky, **5** Špičky s filtrem a další součásti, pokud jsou přítomny v soupravě, která má být použita).
- d. Zavřete víko držáku špiček.
- e. Nalepte štítek s čárovým kódem na eluční zkumavky.
- f. Umístěte **6** Zkumavky pro vzorek a **7** Eluční zkumavky do stojánu.
- 3** Přeneste vzorky do přístroje
- a. Přeneste příslušné množství vzorku do zkumavek se vzorky na stojánu na vzorky.
- b. Vložte stojánek zpět do přístroje a zavřete dvířka.
- 4** Nastavení programu
- a. Vyberte vhodný program protokolu. Stiskněte **NEXT**.
- b. Vyberte příslušný objem vzorku/eluční objem a stiskněte **NEXT**.
- c. Stisknutím číselného tlačítka vyberte správný počet vzorků.
- d. Přímou oskenujte / upravte každé ID vzorku. Po dokončení stiskněte **NEXT**.
- e. Přímou oskenujte / upravte každé ID eluční zkumavky. Po dokončení stiskněte **NEXT**.

- f. Naskenujte čárový kód reagenční kazety. Stiskněte **NEXT**.  
**\* Pokud je reagenční kazeta expirovaná, nelze provést další krok.**
- g. Postupujte dle pokynů na obrazovce a před spuštěním programu znovu zkontrolujte kroky nastavení před spuštěním programu. Stiskněte **NEXT**.
- 

- 5** Start izolace
- a. Zkontrolujte na obrazovce "**PROGRAM CONFIRMATION**".
- b. Stiskněte "**START**" abyste zahájili program. Přístroj provede automaticky program protokolu až do dokončení celého procesu.
- c. Na konci běhu (přibližně **45 minut**), přístroj krátce zapípá a na obrazovce se objeví "**PROGRAM FINISH**".
- d. Pokud nechcete spustit stejný experiment, stiskněte funkční tlačítko  "**HOME**" abyste opustili režim experimentu.
- 

- 6** Odebrání elučních zkumavek
- a. Otevřete dvířka přístroje.
- b. Odeberte eluční zkumavky obsahující vyizolované nukleové kyseliny.
- c. Vyizolované nukleové kyseliny jsou připraveny k okamžitému použití. Před prováděním následných analýz skladujte vyizolované nukleové kyseliny při teplotě 4 °C (krátkodobě, méně než 10 dní) nebo v alikvotách při -70 °C (dlouhodobě).
- d. Zlikvidujte použité reagenční kazety, veškerý jednorázový plast do biohazardního odpadu. **\*Reagenční kazety nepoužívejte opakovaně.**
- e. Pokud nebudete přístroj nadále používat, vraťte stojánek na vzorky zpět do přístroje, zavřete dvířka přístroje a stiskněte funkční tlačítko  "**POWER**", abyste uvedli přístroj do spánkového režimu. Pokud nebudete přístroj delší dobu používat, vypněte napájení.
-

# **Skladování, kvantifikace a stanovení kvality DNA**

Typickým následným využitím izolované DNA je kvalitativní nebo kvantitativní Real-Time PCR při detekci určitého patogenu nebo skupiny patogenů. Pro kontrolu izolačního procesu a dostatečné kvality vyizolované DNA se v kombinaci s komerčně dostupnými amplifikačními systémy do vzorku před izolací standardně přidává exogenní nukleová kyselina, tzv. interní kontrola. RNA nebo DNA interní kontroly by měly být přidány do lyzačního pufru, vždy dle pokynů výrobce soupravy. Interní kontrola je vhodná a rutinně používaná kontrola v testech pro detekci patogenů a kontroluje i kvalitu a celkovou přítomnost DNA v následné qPCR aplikaci.

## **Kvantifikace DNA**

Koncentrace a čistota DNA by měla být stanovena měřením absorbance při 260 nm (A260) respektive poměrem absorbancí A260/A280 ve spektrofotometru. Běžně používaný je např. NanoDrop (Thermo Scientific).

## **Skladování vyizolované DNA**

Purifikovaná genomická DNA může být skladována při 2–8 °C, při –15 °C až –30 °C nebo –65 °C až –90 °C.

# Řešení problémů

\* Tato tabulka je užitečná při řešení běžných problémů. Pokud potřebujete další technickou podporu, kontaktujte distributora Biolife anebo výrobce Ecoli Dx (<https://ecolidx.com>).

Problém	Možná příčina	Komentáře a návrhy
Špatná kvalita DNA nebo výtěžek	Degradace nebo kontaminace reagensů	Před použitím se ujistěte, že reagenty soupravy jsou stále v platné době použití. Zlikvidujte všechny reagenty soupravy, které vykazují změnu barvy nebo známky mikrobiální kontaminace.
	Souprava byla skladována v nevhodných podmínkách	Soupravu skladujte vždy při teplotě 15-25 °C. Pokud se při přepravě v chladném počasí nebo při dlouhodobém skladování vysráží činidlo nebo pufr, sraženiny rozpusťte jemným zahřátím a mícháním roztoku. Nezamrazujte reagenční kazety.
	Nedostatečné množství vzorku	Výtěžek DNA závisí na typu vzorku a počtu jaderných buněk ve vzorku. Proporcionálně upravte celkové vstupní množství vzorku, abyste zvýšili výtěžek DNA.
	Bylo použito příliš mnoho elučního pufru	Eluční objem může být proporčně redukován.
	Eluát finálního produktu není dostatečný.	Shromážděte prosím informace o problému a co nejdříve je poskytněte svému zástupci / technické podpoře.
Problém s ucpáním	Bylo použito příliš mnoho vstupního materiálu vzorku.	Snižte vstupní množství materiálu vzorku nebo vzorek naředte.
Žádný výsledek v následné analýze	Žádný signál / Inhibice PCR	Pro analýzu používejte vhodné kontroly. Zkontrolujte pozitivní kontrolu, negativní kontrolu, vodu (NTC) a interní kontrolu, abyste objasnili možné příčiny problému.
Porucha přístroje / abnormální	Abnormální spotřební plast: 1. Deformita špičky s filtrem 2. Deformita reakční	Vyměňte prosím abnormální spotřební plast za normální.



zvuk	komůrky	
	3. Deformita držáku špičky	
	Abnormální činnost přístroje: 1. Nepřesná korekce hodnot 2. Poškozený náhradní díl nebo součástka	Shromážděte prosím informace o problému (videa a obrázky) a co nejdříve je poskytněte zástupci / technické podpoře ke kalibraci nebo výměně jakýchkoli poškozených nebo opotřebovaných dílů.

## Související produkty

Pro kompletní nabídku kitů pro extrakci nukleových kyselin z jiného druhu výchozího materiálu kontaktujte výrobce Ecoli Dx nebo svého obchodního zástupce Biolife.

Jméno produktu	Katalogové číslo
ePure Blood DNA Extraction kit	E2001
ePure Blood DNA Extraction kit 1200	E2002
ePure Viral Nucleic Acid Extraction Kit	E2003
ePure Tissue DNA Extraction Kit	E2004
ePure Bacterial DNA Extraction Kit	E2006
ePure STD DNA Extraction Kit	E2007
ePure TB DNA Extraction Kit	E2008
ePure FFPE DNA Extraction Kit	E2009
ePure Forensic DNA Extraction Kit	E2010
ePure Pathogen NA Extraction Kit B	E2012
ePure Plant DNA Extraction Kit	E2014
ePure Total RNA Extraction Kit	E2015
ePure CFC DNA Extraction Kit	E2017
ePure cfDNA Extraction Kit Plus	E2024
ePure cfDNA Extraction Kit LV	E2025

## Omezená záruka na produkt

Společnost Ecoli Dx se zavázala poskytovat zákazníkům vysoce kvalitní produkty a služby. Naším cílem je zajistit, aby každý zákazník byl 100% spokojen s našimi produkty a službami. Máte-li jakékoli dotazy nebo obavy, obraťte se na naše zástupce technické podpory.

Ecoli Dx zaručuje funkci všech produktů podle specifikací uvedených v naší literatuře k produktu. Kupující / uživatel musí určit vhodnost produktu pro jeho konkrétní použití.

Na produkty po vypršení doby expirace se neposkytuje žádná záruka. Záruka se nevztahuje na zboží, u kterého nejsou všechny komponenty skladovány a používány v souladu s pokyny.

## Historie revizí

Verze	Datum	Popis
1.0	9. 2. 2022	Vytvoření dokumentu
1.1	22.5.2022	Doplněny údaje dle IVDR legislativy (Varování a bezpečnostní opatření, kvantifikace a stanovení kvality DNA)

