



Clean Cell Free DNA Kit

Brugsanvisning

V. 2 - FEBRUAR 2024



REF CCF-D0384



CleanNA, Coenecoop 75, 2741 PH, Waddinxveen, the Netherlands

Beregnet til in-vitro diagnostisk brug.

Vejledningerne i dette dokument kan ændres uden varsel.

Besøg jævnligt www.cleanna.com/download-ccf for at søge efter opdateringer i dette dokument.

Ansvarsfraskrivelse

CleanNA fraskriver sig alle garantier med hensyn til dette dokument, udtrykt eller underforstået, herunder men ikke begrænset til salgbarhed eller egnethed til et bestemt formål. I videst muligt omfang tilladt ved lov skal CleanNA under ingen omstændigheder være ansvarlig, hvad enten det er kontrakt, skadevoldende handling, garanti eller i henhold til nogen lov eller på noget andet grundlag for særlige, tilfældige, indirekte, straffende, flere eller følgeskader i forbindelse med eller som følge af dette dokument, herunder, men ikke begrænset til, brugen heraf, uanset om det kan forudses eller ej, og uanset om CleanNA underrettes om muligheden for sådanne skader.

Varemærker

De varemærker, som er nævnt heri, tilhører deres respektive ejere.

Kontakt

Coenecoop 75 | 2741 PH Waddinxveen | The Netherlands | T: +31 (0) 182 22 33 50
F: +31 (0) 182 22 33 98 | info@cleanna.com | www.cleanna.com

Indhold

Tilsvaret formål	4
Tilsvaret bruger	4
Indledning og princip	4
Skematisk oversigt.....	5
Leverede materialer	6
Forsendelse, opbevaring og håndtering af reagens.....	6
Advarsler	7
Forholdsregler.....	8
Kvalitetskontrol	10
Begrænsninger	10
Indsamling og opbevaring af prøver	11
Materialer og udstyr, der skal leveres af brugeren	12
Forberedelse af reagenser.....	13
Clean Cell Free DNA Kit - Protokol med enkelt rør	14
Clean Cell Free DNA Kit - 48-brønds pladeprotokol	17
Vejledning til fejlfinding.....	21
Symboler	23
Bestillingsoplysninger	24
Historik for dokumentrevison	24
Noter	25

Tilsigtet formål

Dette udstyrs tilsigtede formål er at ekstrahere cirkulerende cellefrit DNA (cfDNA) fra humant plasma i en tilstrækkelig renhed til at blive anvendt i downstream-detektionsprocedurer baseret på princippet om polymerasekædereaktion (PCR).

Tilsigtet bruger

De tilsigtede brugere er professionelle laboratoriemedarbejdere, der er uddannet i molekylærbiologiske teknikker.

Indledning og princip

Clean Cell Free DNA Kit er designet til isolering af cellefrit DNA fra humant plasma. Hele proceduren giver mulighed for både manuel og automatiseret prøvebehandling.

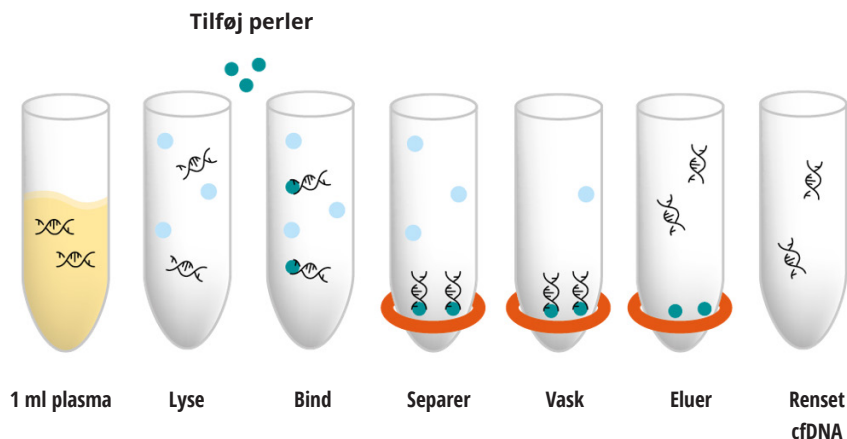
Ved at kombinere vores proprietære buffersystem med bekvemmeligheden ved vores magnetiske CleanNA CCF particles, elimineres behovet for vakuumtrin eller tragte i hele proceduren. Som følge heraf giver Clean Cell Free DNA Kit en simpel 4-trins proces: lyse, binde, vaske og eluere.

Vores CleanNA Particles CCF tilbyder en høj bindingskapacitet og kombineret med buffersystemet målrettes mindre DNA-fragmenter (120-400 bp). Denne kombination minimerer risikoen for genomisk DNA-kontaminering. CleanNA particles CCF's høje bindingsevne reducerer mængden af partikler, der kræves under bindingstrin, hvorved elueringsvolumenet reduceres. Dette muliggør isoleret cellefrit DNA fra 1 ml plasma i så lidt som 30-60 µl.

Det isolerede celfrie DNA er klar til brug i (q)PCR som downstream-applikation.

Skematisk oversigt

Den unikt formulerede lysebuffer frigiver det cirkulerende DNA fra proteiner og vesikler bundet til DNA'et, mens DNaser inaktiveres. DNA isoleres fra lysatet i et trin ved binding til de magnetiske partiklers overflade. De magnetiske CleanNA-partikler adskilles derefter fra lysatet ved hjælp af en magnetisk separationsanordning. Efter et par hurtige vasketrin for at fjerne sporkontaminanter elueres det rensede DNA fra CleanNA-partiklerne ved hjælp af en Elution Buffer.



Figur 1: Skematisk oversigt over Clean Cell Free DNA Kit-proceduren.

Leverede materialer

Kitindhold:

Komponent	Volumen CCF-D0384
CCF Lysis	30 ml
CCF Binding	430 ml
CCF Wash 1	2 x 225 ml
CCF Wash 2	2 x 45 ml
Elution Buffer	100 ml
Proteinase K Solution	6,5 ml
CleanNA Particles CCF	4,3 ml

Forsendelse, opbevaring og håndtering af reagens

Forsendelse af Clean Cell Free DNA Kit skal udføres ved stuetemperatur (15-25 °C).
Frys ikke komponenterne i Clean Cell Free DNA Kit.

Komponent	Opbevaring
CCF Lysis*	Stuetemperatur (15-25 °C)
CCF Binding	Stuetemperatur (15-25 °C)
CCF Wash 1	Stuetemperatur (15-25 °C)
CCF Wash 2	Stuetemperatur (15-25 °C)
Elution Buffer	Stuetemperatur (15-25 °C)
Proteinase K Solution	Stuetemperatur (15-25 °C) (til opbevaring > 12 måneder, opbevar ved 2-8 °C)
CleanNA Particles CCF	2-8 °C

* Hvis lysesbufferen viser et hvidt bundfald i flasken, forvarmes bufferen til 37 °C for at opløse bundfaldet.

Stabilitet i brug: Efter åbning af Clean Cell Free DNA Kit, kan produktet anvendes sikkert i en periode på 19 dage.

Brug ikke Clean Cell Free DNA Kit efter udløbsdatoen på etiketten på den ydre æske.

Advarsler

Læs instruktionerne omhyggeligt, inden du bruger kittet.

Bland ikke flere kits LOT-numre.

Sørg for, at kitflaskerne ikke er beskadiget, og at der ikke lækker væske fra flaskerne. Brug ikke et kit, der er blevet beskadiget.

LOT-nummeret på CleanNA Particles CCF-æskeemballagen er forskellig fra LOT-nummeret på CleanNA Particles CCF-flasken. LOT-nummeret på æsken matcher LOT-nummeret på hele kittet, og det på flaskerne er specifikt til partiklerne. Da CleanNA Particles CCF opbevares ved en anden temperatur, skal du sørge for, at LOT-nummeret på æskeemballagen til partiklerne stemmer overens med kittets LOT-nummer før brug.

Enhver alvorlig hændelse i forbindelse med udstyret indberettes til producenten og den kompetente myndighed i den medlemsstat, hvor brugeren og/eller patienten er etableret.

Forholdsregler

Alle sikkerhedsoplysninger findes i sikkerhedsdatabladet (SDS). Anmod om din SDS via cleanna.com/sds-request.

CCF Binding



Brandfarlig væske og damp. Forårsager alvorlig øjenskade. Skadelig ved indtagelse. Forårsager hudirritation. Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virkninger. Kontakt med syrer frigør meget giftig gas.



Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Ingen rygning. Hold beholderen tæt lukket. Brug beskyttelseshandsker, beskyttelsesbeklædning, øjenbeskyttelse og ansigtsbeskyttelse. Jord- og bindingsbeholder og modtageudstyr. Brug eksplosionssikkert elektrisk/ventilerende/belysning/egensikkert udstyr. Brug gnistfri værktøjer. Tag skridt til at forhindre statiske udladninger. Vask alle udsatte ydre kropsområder grundigt efter håndtering. Du må ikke spise, drikke eller ryge, når du bruger dette produkt. Undgå udslip til miljøet.



HVIS I ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern kontaktlinser, hvis de er til stede og det er nemt at gøre. Fortsæt skylning.

Ring straks til et GIFTCENTER/læge/førstehjælper.

I tilfælde af brand: Brug alkoholbestandigt skum eller normalt proteinskum til at slukke.

VED INDTAGELSE: Ring straks til et GIFTCENTER/læge/førstehjælper, hvis du føler dig utilpas.

HVIS PÅ HUD: Vask med rigeligt vand og sæbe.

VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tag straks alt forurenet tøj af. Skyl huden med vand [eller tag brusebad].

Skyl munden.

Hvis der fremkommer hudirritation. Søg læge.

Tag forurenet tøj af og vask det inden genbrug.

CCF Lysis



Skadelig for vandlevende organismer. Forårsager alvorlig øjenskade. Forårsager hudirritation.

Brug beskyttelseshandsker/beskyttelsesbeklædning/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. Undgå udslip til miljøet.

HVIS I ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern kontaktlinser, hvis de er til stede og det er nemt at gøre. Fortsæt skylning.

Ring straks til et GIFTCENTER eller læge.

Tag forurenet tøj af og vask det inden genbrug.

HVIS PÅ HUD: Vask med rigeligt vand og sæbe.

Hvis der fremkommer hudirritation. Søg læge.

CCF Wash 1



Skadelig ved indtagelse. Forårsager alvorlige hudforbrændinger og øjenskader. Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virkninger. Kontakt med syrer frigør meget giftig gas.



Indånd ikke tåge/dampe/spray. Vask alle udsatte ydre kropsområder grundigt efter håndtering. Brug beskyttelseshandsker, beskyttelsesbeklædning, øjenbeskyttelse og ansigtsbeskyttelse. Du må ikke spise, drikke eller ryge, når du bruger dette produkt. Undgå udslip til miljøet.

VED INDTAGELSE: Skyl munden. Fremkald IKKE opkastning.

VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tag straks alt forurenet tøj af. Skyl huden med vand [eller tag brusebad].

HVIS I ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern kontaktlinser, hvis de er til stede og det er nemt at gøre. Fortsæt skylning.

Ring straks til et GIFTCENTER/læge/førstehjælper.

Vask forurenet tøj før genbrug.

VED INDTAGELSE: Ring straks til et GIFTCENTER/læge/førstehjælper, hvis du føler dig utilpas.

HVIS DU INHALERER: Flyt personen ud i frisk luft og gør det behageligt at trække vejret.

Proteinase K Solution



Kan forårsage allergi eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding.

Indånd ikke tåge/dampe/spray. I tilfælde af utilstrækkelig ventilation skal du bære åndedrætsværn.

HVIS DU INHALERER: Flyt den tilskadedekomne til frisk luft og hold personen i ro i en position, der er behagelig for vejtrækning.

Hvis du oplever luftvejssymptomer: Ring til et GIFTCENTER eller læge.

Bemærk: For sikker bortskaffelse bedes du konsultere dine lokale affaldsbestemmelser.

Kvalitetskontrol

CleanNA producerer hver lot i Clean Cell Free DNA Kit i henhold til forudbestemte og validerede protokoller i kvalitetsstyringssystemet (QMS). Derudover udføres en kvalitetskontrol efter produktion af hvert parti for at sikre ensartet produktkvalitet. CleanNA's QMS er EN-ISO 13485-certificeret.

Begrænsninger

Ydeevnen af Clean Cell Free DNA Kit er blevet fastslået med humant plasma konserveret i følgende antikoagulantia:

- EDTA
- Citratphosphat-dextrose (CPD)
- Natriumcitrat

En række individuelle plasmadonorer er inkluderet i ydeevneevalueringen. Ydeevnen af Clean Cell Free DNA Kit er ikke blevet testet med hæmoliseret plasma.

Det er brugerens ansvar at validere ydeevnen af prøvemateriale, der ikke anvendes i ydeevneevalueringen.

Vi anbefaler anvendelse af en intern ekstraktionskontrol pr. prøve til at identificere et falsk negativt resultat i downstream-detektionsmetoder forårsaget af potentielt ukendte hæmmende stoffer i individuelle patientplasmaprøver.


Kittets ydeevne er blevet fastlagt med downstream-detekteringsmetoder baseret på polymerasekædereaktion. Det er brugerens ansvar at validere enhedens ydeevne, når den bruges sammen med andre downstream-detekteringsmetoder.

Diagnostiske resultater genereret efter brug af Clean Cell Free DNA Kit skal fortolkes i sammenhæng med andre kliniske eller laboratoriefund.

Indsamling og opbevaring af prøver

Plasma

Nukleinsyreisolutionsproceduren bør påbegyndes umiddelbart efter bloddonation og plasmaseparation*. Hvis dette ikke er muligt, kan plasma opbevares i op til 24 timer ved 2-8 °C til kortvarig opbevaring, og i tilfælde af længere opbevaring kan plasma opbevares i op til 4 uger ved -20 °C eller -80 °C. Optø plasmaprøverne ved stuetemperatur, før plasmaet anvendes til cellefri DNA-ekstraktion.

 **Bemærk:** Prøver af human oprindelse er potentielt smitsomme. Tag passende forholdsregler, mens du håndterer dem.

* Til plasmaforberedelse før isolering af cellefrie nukleinsyrer fra blodprøver anbefaler vi følgende procedure:

1. Spin fuldblodsør ved centrifugering af røret (rørene) i 10 minutter ved 3.000 rpm (1.900 x g) ved 4 °C.
2. Plasmasupernatanten suges forsigtigt til uden at forstyrre blodcellerne.
3. Plasmasupernatanten overføres til et frisk centrifugeglas.
4. For at sikre, at plasmaet er fri for nukleerede blodlegemer, gentages trin 1 til 3 for en anden adskillelse.
5. Plasmaet kan anvendes til nukleinekstraktion i dette trin.

Udfør trin 6-9 nedenfor for også at fjerne intakt kromatin fra bristede blodlegemer fra plasmaet. Bemærk, at dette også kan fjerne en lav mængde cfDNA, der er til stede i større ekstracellulære vehikler. Ellers skal du fortsætte i trin 10.

6. Plasmaprøverne centrifugeres ved 16.000 x g ved 4 °C ved hjælp af en fastvinklet rotor.
7. Plasmasupernatanten fjernes forsigtigt, og det sikres, at pelletten ikke forstyrres.
8. Overfør plasmaet til et frisk rør.
9. Plasmaet kan nu anvendes til nukleinekstraktion.
10. Opbevar plasmaet i henhold til ovenstående instruktioner.

Materialer og udstyr, der skal leveres af brugeren

Til isolering i enkeltrør

Materialer og reagenser, der skal leveres af brugeren til rørprotokollen for op til 1 ml prøveinput:

- Frisk ethanol absolut
- Magnetisk separationsanordning til 1,5/2,0 ml rør
- Vortexer
- Shaker eller Rocker
- Inkubator kan indstilles til 60 °C
- 1,5 ml mikrocentrifugeglas
- 15 ml mikrocentrifugeglas

Til isolering ved hjælp af 48-brønds pladeformat

Materialer og reagenser, der skal leveres af brugeren til pladeprotokollen for op til 1 ml prøveinput:

- Frisk ethanol absolut
- 48-brønds magnetplade, for eksempel Alpaqua CatNo# A000530
- Vortexer
- Shaker eller Rocker
- Inkubator kan indstilles til 60 °C
- 48-dybbrøndsplade(r), 3,5 ml; for eksempel Wuxi NEST Biotechnology CatNo# 504102
- 96-dybbrøndsplade(r) eller 96-brønds PCR-plade(r)

Forberedelse af reagenser

CCF Wash 2

Fortynd CCF Wash 2 med frisk ethanol absolut som følger og opbevar ved stuetemperatur.

Kit	Ethanol Absolute, der skal tilsættes
CCF-D0384	180 ml

Clean Cell Free DNA Kit - Protokol med enkelt rør

Før start:

- Indstil inkubatoren til 60 °C.
- Sørg for, at CCF Lysis er helt opløst. Hvis ikke, forvarmes til 37 °C.
- Ryst eller vortex CleanNA Particles CCF for at resuspendere partiklerne fuldstændigt før brug.
- Forbered CCF Wash 2 i henhold til instruktionerne i afsnittet Forberedelse af reagenser på side 13.

Protokol:

1. Tilsæt op til 1 ml plasmaprøve til et 15 ml centrifugeglas (medfølger ikke).

⚠ Bemærk: Overskrid ikke det maksimale prøvevolumen, dette vil reducere effektiviteten af ekstraktionsproceduren.

2. Hvis prøvevolumen er mindre end 1 ml, bringes prøvevolumenet op til 1 ml med Elution Buffer (leveres med dette kit).
3. Tilsæt 15 µl Proteinase K Solution
4. Tilsæt 67 µl CCF Lysis.
5. Vortex ved maksimal hastighed eller pipet op og ned for at blande grundigt.
6. Inkuber ved 60 °C i 20 minutter. Bland ved at vende eller ryste hvert 10. minut.
7. Inkuber ved stuetemperatur i 10 minutter.

⚠ Bemærk: Dette inkubationstrin er afgørende for at lade prøvetemperaturen falde og opnå den mest effektive DNA-binding til CleanNA Particles CCF.

8. Tilsæt 1 ml CCF Binding. Vortex ved maksimal hastighed i 30 sekunder eller pipet op og ned for at blande grundigt.
9. Tilsæt 10 µl CleanNA Particles CCF Vend prøven 10 gange eller pipet op og ned for at blande.

⚠ Bemærk: Ryst eller vortex CleanNA Particles CCF for at resuspendere partiklerne fuldstændigt før brug.

10. Inkuber i 10 minutter ved stuetemperatur med kontinuerlig blanding. Prøven blandes i hele inkubationstiden på 10 minutter ved omrystning eller rokning.

⚠ Bemærk: Undgå vortex ved høje hastigheder, da dette vil forårsage skumdannelse, hvilket resulterer i et reduceret udbytte. Blandingshastigheden skal indstilles til kontinuerligt at holde CleanNA Particles CCF resuspenderet i opløsning.

11. Overfør 1 ml af blandingen til et 1,5 ml mikrocentrifugerør (medfølger ikke).
12. Placer røret på en magnetisk separationsanordning for at magnetisere CleanNA Particles CCF.

13. Der inkuberes ved stuetemperatur, indtil CleanNA Particles CCF er helt fjernet fra opløsningen.

⚠ Bemærk: Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, ellers kan forårsage lavere udbytte.

14. Den fjernede supernatant aspireres og kasseres.

⚠ Bemærk: Forstyr eller pipet ikke CleanNA Particles CCF. Dette kan medføre lavere udbytte.

15. Overfør den resterende blanding fra trin 11 til det 1,5 ml mikrocentrifugeglas, der blev brugt i de foregående trin.

16. Placer røret på en magnetisk separationsanordning for at magnetisere CleanNA Particles CCF.

17. Der inkuberes ved stuetemperatur, indtil CleanNA Particles CCF er helt fjernet fra opløsningen.

⚠ Bemærk: Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, ellers kan forårsage lavere udbytte.

18. Den fjernede supernatant aspireres og kasseres.

⚠ Bemærk: Forstyr eller pipet ikke CleanNA Particles CCF. Dette kan medføre lavere udbytte.

19. Fjern det rør, der indeholder CleanNA Particles CCF, fra den magnetiske separationsanordning.

20. Tilsæt 500 µl CCF Wash 1.

21. Resuspender CleanNA Particles CCF ved vortex i 2 minutter eller pipettering op og ned 20 gange.

⚠ Bemærk: For at opnå god renhed er fuldstændig resuspension af CleanNA Particles CCF afgørende.

22. Placer røret på den magnetiske separationsanordning for at magnetisere CleanNA Particles CCF.

23. Der inkuberes ved stuetemperatur, indtil CleanNA Particles CCF er helt fjernet fra opløsningen.

⚠ Bemærk: Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, ellers kan forårsage lavere udbytte.

24. Den fjernede supernatant aspireres og kasseres.

⚠ Bemærk: Forstyr eller pipet ikke CleanNA Particles CCF. Dette kan medføre lavere udbytte.


25. Gentag trin 19-24 for et sekundært "CCF Wash 1"-vasketrin.

26. Fjern røret, der indeholder CleanNA Particles CCF, fra den magnetiske separationsenhed.


27. Tilsæt 500 µl CCF Wash 2.

⚠ Bemærk: CCF Wash 2 skal fortyndes med Ethanol Absolute før brug. Se venligst side 13 for instruktioner.


28. Resuspender CleanNA Particles CCF ved at vortexe i 2 minutter eller pipettering op og ned 20 gange.
29. Placer røret på den magnetiske separationsenhed for at magnetisere CleanNA Particles CCF.
30. Der inkuberes ved stuetemperatur, indtil CleanNA Particles CCF er helt fjernet fra opløsningen.

 **Bemærk:** Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, ellers kan forårsage lavere udbytte.


31. Den fjernede supernatant aspireres og kasseres.

 **Bemærk:** Forstyr eller pipet ikke CleanNA Particles CCF. Dette kan medføre lavere udbytte.


32. Genta trin 26-31 for et sekundært "CCF Wash 2"-vasketrin.
33. Fjern røret fra den magnetiske separationsanordning i ca. 30 sekunder.
34. Placer røret på den magnetiske separationsanordning for at magnetisere CleanNA Particles CCF.

 **Bemærk:** Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, ellers kan forårsage lavere udbytte.


35. Opsug og kassér den resterende CCF Wash 2.

 **Bemærk:** Forstyr eller pipet ikke CleanNA Particles CCF. Dette kan medføre lavere udbytte.

36. Lad det åbne rør være på den magnetiske separationsanordning i 25 minutter for at tørre CleanNA Particles CCF.
37. Fjern det rør, der indeholder CleanNA Particles CCF, fra den magnetiske separationsanordning.
38. Tilsæt 30-60 µl Elution Buffer Resuspender CleanNA Particles CCF ved vortex i 20 minutter eller pipettering op og ned 20 gange.

 **Bemærk:** Sørg for, at elueringsbufferen dækker CleanNA Particles CCF. For lave elueringsvolumener kan forårsage lavere udbytte. For høje volumener forårsager lavere koncentration af DNA i eluatet.

39. Inkuber ved stuetemperatur i 5 minutter under konstant vortex.
40. Placer røret på den magnetiske separationsanordning for at magnetisere CleanNA Particles CCF.
41. Der inkuberes ved stuetemperatur, indtil CleanNA Particles CCF er helt fjernet fra opløsningen.

 **Bemærk:** Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, ellers kan forårsage hæmning under downstream-PCR.

42. Den fjernede supernatant indeholdende rensede DNA overføres til et rent 1,5 ml mikrocentrifugeglas (medfølger ikke).
43. Opbevar de ekstraherede cellefrie nukleinsyrer ved -20 °C.

Clean Cell Free DNA Kit - 48-brønds pladeprotokol

Før start:

- Indstil inkubatoren til 60 °C.
- Sørg for, at CCF Lysis er helt opløst. Hvis ikke, forvarmes til 37 °C.
- Ryst eller vortex CleanNA Particles CCF for at resuspendere partiklerne fuldstændigt før brug.
- Forbered CCF Wash 2 i henhold til instruktionerne i afsnittet Forberedelse af reagenser på side 13.

Protokol:

1. Tilsæt op til 1 ml plasma/serumprøver til en 48-dybbrøndsplade (medfølger ikke).

⚠ Bemærk: Overskrid ikke det maksimale prøvevolumen, dette vil reducere effektiviteten af ekstraktionsproceduren.

2. Hvis prøvevolumen er mindre end 1 ml, bringes prøvevolumenet op til 1 ml med Elution Buffer (leveres med dette kit).
3. Tilsæt 15 µl Proteinase K Solution
4. Tilsæt 67 µL CCF Lysis og pladen forsejles.
5. Vortex ved maksimal hastighed eller pipet op og ned for at blande grundigt.
6. Inkuber ved 60 °C i 20 minutter. Bland ved at vende eller ryste hvert 10. minut.
7. Inkuber ved stuetemperatur i 10 minutter.

⚠ Bemærk: Dette inkubationstrin er afgørende for at lade prøvetemperaturen falde og opnå den mest effektive DNA-binding til CleanNA Particles CCF.

8. Tilsæt 1 ml CCF Binding. Vortex ved maksimal hastighed i 30 sekunder eller pipet op og ned for at blande grundigt.
9. Tilsæt 10 µl CleanNA Particles CCF Vend prøven 10 gange eller pipet op og ned for at blande.

⚠ Bemærk: Ryst eller vortex CleanNA Particles CCF for at resuspendere partiklerne fuldstændigt før brug.

10. Inkuber i 10 minutter ved stuetemperatur med kontinuerlig blanding. Prøverne blandes i hele inkubationstiden på 10 minutter ved omrystning eller rokning.

⚠ Bemærk: Undgå vortex ved høje hastigheder, da dette vil forårsage skumdannelse, hvilket resulterer i et reduceret udbytte. Blandingshastigheden skal indstilles til kontinuerligt at holde CleanNA Particles CCF resuspendert i opløsning.

11. Placer 48-dybbrøndspladen på den magnetiske plade med 48 brønde for at magnetisere CleanNA Particles CCF. Partiklerne fra hver brønd opsamles af magneterne i bunden.

12. Der inkuberes ved stuetemperatur, indtil CleanNA Particles CCF er helt fjernet fra opløsningen.

⚠ Bemærk: Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, perletab kan forårsage lavere udbytte.

13. Den fjernede supernatant aspireres og kasseres.

⚠ Bemærk: Forstyr eller pipet ikke CleanNA Particles CCF. Dette kan medføre lavere udbytte.

14. Fjern den 48-brøndsplade, der indeholder CleanNA Particles CCF, fra den magnetiske separationsanordning.

15. Tilsæt 500 µl CCF Wash 1.

16. Resuspender CleanNA Particles CCF ved vortex i 2 minutter eller pipettering op og ned 20 gange.

⚠ Bemærk: For at opnå god renhed er fuldstændig resuspension af CleanNA Particles CCF afgørende.

17. Overfør den resuspenderede CleanNA Particles CCF til en ny 48-dybbrøndsplade (medfølger ikke).

⚠ Bemærk: Fortsæt med at arbejde i 48-brøndsformat for den resterende procedure.

18. Placer 48-dybbrøndspladen på den magnetiske plade med 48 brønde for at magnetisere CleanNA Particles CCF.

19. Der inkuberes ved stuetemperatur, indtil CleanNA Particles CCF er helt fjernet fra opløsningen.

⚠ Bemærk: Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, perletab kan forårsage lavere udbytte.

20. Den fjernede supernatant aspireres og kasseres.

⚠ Bemærk: Forstyr eller pipet ikke CleanNA Particles CCF. Dette kan medføre lavere udbytte.

21. Fjern den 48-brøndsplade, der indeholder CleanNA Particles CCF, fra den magnetiske separationsanordning.

22. Tilsæt 500 µl CCF Wash 1.

23. Resuspender CleanNA Particles CCF ved vortex i 2 minutter eller pipettering op og ned 20 gange.

⚠ Bemærk: For at opnå god renhed er fuldstændig resuspension af CleanNA Particles CCF afgørende.

24. Placer 48-dybbrøndspladen på den magnetiske plade med 48 brønde for at magnetisere CleanNA Particles CCF.

25. Der inkuberes ved stuetemperatur, indtil CleanNA Particles CCF er helt fjernet fra opløsningen.

⚠ Bemærk: Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, perletab kan forårsage lavere udbytte.

26. Den fjernede supernatant aspireres og kasseres.

⚠ Bemærk: Forstyr eller pipet ikke CleanNA Particles CCF. Dette kan medføre lavere udbytte.

27. Fjern den 48-brøndsplade, der indeholder CleanNA Particles CCF, fra den magnetiske separationsanordning.

28. Tilsæt 500 µl CCF Wash 2.

⚠ Bemærk: CCF Wash 2 skal fortyndes med Ethanol Absolute før brug. Se venligst side 13 for instruktioner.

29. Resuspender CleanNA Particles CCF ved vortex i 2 minutter eller pipettering op og ned 20 gange.

30. Placer 48-dybbrøndspladen på den magnetiske plade med 48 brønde for at magnetisere CleanNA Particles CCF.

31. Der inkuberes ved stuetemperatur, indtil CleanNA Particles CCF er helt fjernet fra opløsningen.

⚠ Bemærk: Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, perletab kan forårsage lavere udbytte.

32. Den fjernede supernatant aspireres og kasseres.

⚠ Bemærk: Forstyr eller pipet ikke CleanNA Particles CCF. Dette kan medføre lavere udbytte.

33. Gentag trin 28-32 for et sekundært "CCF Wash 2"-vasketrin.

34. Fjern den 48-brøndsplade, der indeholder CleanNA Particles CCF, fra den magnetiske separationsanordning.

35. Placer 48-dybbrøndspladen på den magnetiske plade med 48 brønde for at magnetisere CleanNA Particles CCF.

⚠ Bemærk: Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, perletab kan forårsage lavere udbytte.

36. Opsug og kassér den resterende CCF Wash 2.

⚠ Bemærk: Forstyr eller pipet ikke CleanNA Particles CCF. Dette kan medføre lavere udbytte.

37. Lad røret sidde på den magnetiske separationsanordning i 25 minutter for at tørre CleanNA Particles CCF.


38. Fjern den 48-brøndsplade, der indeholder CleanNA Particles CCF, fra den magnetiske separationsanordning.

39. Tilsæt 30-60 µl Elution Buffer Resuspender CleanNA Particles CCF ved vortex i 20 minutter eller pipettering op og ned 20 gange.

⚠ Bemærk: Sørg for, at elueringsbufferen dækker CleanNA Particles CCF. For lave elueringsvolumener kan forårsage lavere udbytte. For høje volumener forårsager lavere koncentration af DNA i eluatet.

40. Inkuber ved stuetemperatur i 5 minutter under konstant blanding ved pipettering, omrystning eller vortex.

41. Placer 48-dybbrøndspladen på den magnetiske plade med 48 brønde for at magnetisere CleanNA Particles CCF.
42. Der inkuberes ved stuetemperatur, indtil CleanNA Particles CCF er helt fjernet fra opløsningen.

 **Bemærk:** Sørg for at inkubere, indtil alle partikler er fjernet fra opløsningen, perleoverførsel kan forårsage hæmning under downstream-PCR.

43. Den fjernede supernatant, der indeholder rensed DNA, overføres til en ren 98-brøndsplade eller til rene individuelle rør (medfølger ikke).
44. Opbevar de ekstraherede cellefrie nukleinsyrer ved -20 °C.

Vejledning til fejlfinding

Brug denne vejledning til fejlfinding af eventuelle problemer, der måtte opstå. For yderligere hjælp, kontakt venligst din lokale distributør.

Mulige problemer og forslag

Problem	Årsag	Forslag
Lavt DNA-udbytte	Ufuldstændig resuspension af CleanNA Particles CCF.	Resuspender CleanNA Particles CCF ved at vortexe kraftigt før brug.
	Ineffektiv binding af DNA til CleanNA Particles CCF.	Sørg for at lade prøven afkøle ved stuetemperatur i 10 minutter, før der tilsættes CCF Binding.
		Sørg for at blande hver prøve kontinuerligt gennem hele bindingsinkubationen.
	Tab af CleanNA Particles CCF under drift.	Undgå at forstyrre CleanNA Particles CCF under aspiration.
	DNA forbliver bundet til CleanNA Particles CCF.	Fortynd CCF Wash 2 ved tilsætning af en passende mængde Ethanol Absolute før brug (se side 13 for instruktioner).
		Sørg for, at elueringsbufferen dækker alle CleanNA Particles CCF.
Ethanoloverførsel.	Tør CleanNA Particles CCF ved stuetemperatur i 25 minutter før eluering.	
CleanNA particles CCF fjernes ikke helt fra opløsningen	For kort magnetiseringstid.	Forøg opsamlingsiden på den magnetiske separationsanordning.
Co-oprensning med høj molekylvægt	To CCF Wash 1-trin skal udføres.	Udfør to CCF Wash 1-trin, som beskrevet i brugsanvisningen. Forøg mængden af vaskebuffer, hvis det er nødvendigt.
Problemer ved downstream-applikationer	Saltoverførsel.	CCF Wash 2 skal være ved stuetemperatur.

Unormale bioanalytordata	Bioanalytator viser flere skarpe toppe under analysen.	Sørg for at fjerne alle spor af den fjernede supernatant efter hvert vasketrin.
		Sørg for at inkubere røret/pladen i 25 minutter for at tørre CleanNA Particles CCF.
	Bioanalytator viser basisinjeklatring mod slutningen.	Kontroller bioanalytatorchippet for luftbobler. Læs prøver på en ny frisklavet chip.
	Bioanalytator viser høj blob i begyndelsen af sporingen.	Sørg for, at den rensede prøve ikke indeholder spor af CleanNA particles CCF.

Symboler

	In vitro-diagnostik
	CE-mærke. Dette produkt opfylder kravene til CE-IVD-udstyr i henhold til EU-forordningen for medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik (2017/746)
	Bestillingsnummer
	Producent
	Forsigtighedsregel
	Temperaturgrænse
	Udløbsdato
	Lotnummer

Bestillingsoplysninger

Kontakt din lokale distributør for at bestille.

Produkt	Delnummer
Clean Cell Free DNA Kit (384 forberedelser)	CCF-D0384

Historik for dokumentrevision

Manuel version	Revisionsdato	Revideret kapitel	Revisionsforklaring
1	2023/OCT/02	N/A	Indledende version
2	2024/FEB/08	Den første side og skematisk oversigt.	Opdatering med link til hjemmeside og skematisk oversigt.

Noter

Noter

Noter

Kontakt

Coenecoop 75 | 2741 PH Waddinxveen | Holland

Tlf: +31 (0) 182 22 33 50 | Fax: +31 (0) 182 22 33 98 | info@cleanna.com

www.cleanna.com

