



# Clean Cell Free DNA Kit

## Gebruiksaanwijzing

V. 2 - FEBRUARI 2024



**REF** CCF-D0384



CleanNA, Coenecoop 75, 2741 PH, Waddinxveen, Nederland

Bestemd voor in-vitro diagnostisch gebruik.

De informatie in dit document kan zonder voorafgaande kennisgeving worden gewijzigd. Ga regelmatig naar [www.cleanna.com/download-ccf](http://www.cleanna.com/download-ccf) om te controleren of dit document is bijgewerkt.

## Disclaimer

CleanNA wijst alle garanties met betrekking tot dit document af, expliciet of impliciet, waaronder maar niet beperkt tot die van verkoopbaarheid of geschiktheid voor een bepaald doel. Voor zover toegestaan door de wet, kan CleanNA in geen geval aansprakelijk worden gesteld, hetzij contractueel, op grond van onrechtmatige daad, garantie, of onder enige wet of op enige andere basis voor speciale, incidentele, indirecte, strafrechtelijke, meervoudige of gevolgschade in verband met of voortvloeiend uit dit document, waaronder, maar niet beperkt tot het gebruik ervan, al dan niet voorzienbaar en al dan niet CleanNA is geadviseerd over de mogelijkheid van dergelijke schade.

## Handelsmerken

De hierin genoemde handelsmerken zijn eigendom van hun respectieve eigenaren.

## Contact

Coenecoop 75 | 2741 PH Waddinxveen | Nederland | T: +31 (0) 182 22 33 50  
F: +31 (0) 182 22 33 98 | [info@cleanna.com](mailto:info@cleanna.com) | [www.cleanna.com](http://www.cleanna.com)

# Inhoud

---

Beoogd doel .....	4
Beoogde gebruiker .....	4
Inleiding en uitgangspunt .....	4
Schematisch overzicht.....	5
Geleverde materialen.....	6
Verzending, opslag en behandeling van reagentia.....	6
Waarschuwingen .....	7
Voorzorgsmaatregelen.....	8
Kwaliteitscontrole .....	10
Beperkingen .....	10
Verzamelen en opslaan van monsters.....	11
Materialen en apparatuur te leveren door gebruiker.....	12
Bereiding van reagentia .....	13
Clean Cell Free DNA Kit - Protocol buisjes voor eenmalig gebruik.....	14
Clean Cell Free DNA Kit - Protocol 48-well platen.....	17
Handleiding probleemoplossing.....	21
Symbolen .....	23
Bestelinformatie.....	24
Revisiegeschiedenis document.....	24
Aantekeningen .....	25

# Beoogd doel

---

Het beoogde doel van het hulpmiddel is het extraheren van circulerend celvrij DNA (cfDNA) uit menselijk plasma met een voldoende zuiverheid voor gebruik in downstream-detectieprocedures op basis van het principe van de polymerasekettingreactie (PCR).

# Beoogde gebruiker

---

De beoogde gebruikers zijn professionele laboratoriummedewerkers die getraind zijn in moleculaire biogietechneken.

# Inleiding en uitgangspunt

---

De Clean Cell Free DNA Kit is ontworpen voor isolatie van celvrij DNA uit menselijk plasma. De hele procedure maakt zowel handmatige als geautomatiseerde monsterverwerking mogelijk.

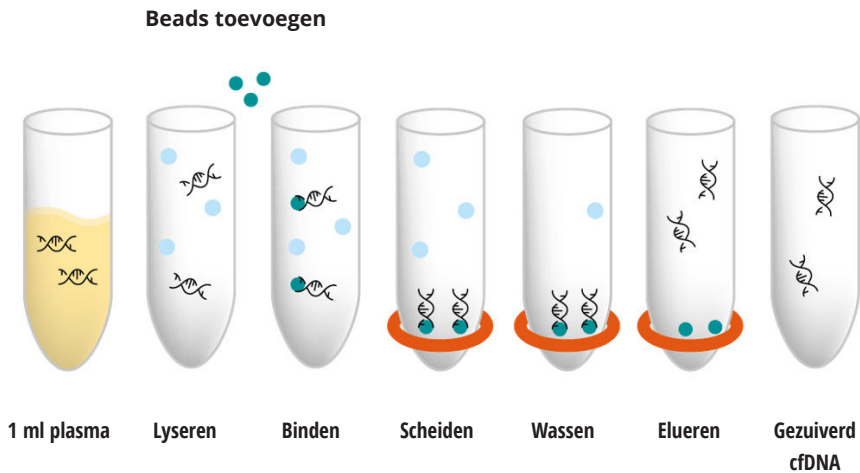
Door ons gepatenteerde buffersysteem te combineren met het gemak van onze magnetische CleanNA Particles CCF, zijn vacuümstappen of trechters tijdens de hele procedure overbodig. Daarom biedt de Clean Cell Free DNA Kit een eenvoudig proces in 4 stappen: lyseren, binden, wassen en elueren.

Onze CleanNA Particles CCF bieden een hoge bindingscapaciteit en richten zich, in combinatie met het buffersysteem, op kleinere DNA-fragmenten (120-400 bp). Deze combinatie minimaliseert het risico op contaminatie van genomisch DNA. De hoge bindingscapaciteit van de CleanNA Particles CCF verlaagt de hoeveelheid deeltjes die nodig zijn tijdens de bindingsstappen en daarmee het elutievolume. Hierdoor kan geïsoleerd celvrij DNA uit 1 ml plasma geëluëerd worden in slechts 30-60 µl.

Het geïsoleerde celvrije DNA is klaar voor gebruik in (q)PCR als downstream-toepassing.

# Schematisch overzicht

De uniek samengestelde lysisbuffer bevrijdt het circulerende DNA van eiwitten en vesikels die aan het DNA gebonden zijn, terwijl DNasen worden geïnactiveerd. DNA wordt in één stap uit het lysaat geïsoleerd door binding aan het oppervlak van de magnetische deeltjes. De CleanNA magnetische deeltjes worden vervolgens gescheiden van het lysaat met behulp van een magnetisch scheidingsapparaat. Na een paar snelle wasstappen om verontreinigingen te verwijderen, wordt het gezuiverde DNA geëluëerd uit de CleanNA-deeltjes met behulp van een Elution Buffer.



Afbeelding 1: Schematisch overzicht van de Clean Cell Free DNA Kit-procedure.

# Geleverde materialen

## Inhoud kit:

Component	Volume 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

## Verzending, opslag en behandeling van reagentia

De Clean Cell Free DNA Kit moet bij kamertemperatuur (15-25 °C) worden verzonden. Vries de componenten van de Clean Cell Free DNA Kit niet in.

Component	Opslag
CCF Lysis*	Kamertemperatuur (15-25 °C)
CCF Binding	Kamertemperatuur (15-25 °C)
CCF Wash 1	Kamertemperatuur (15-25 °C)
CCF Wash 2	Kamertemperatuur (15-25 °C)
Elution Buffer	Kamertemperatuur (15-25 °C)
Proteinase K Solution	Kamertemperatuur (15-25 °C) (voor opslag > 12 maanden, bewaren bij 2-8 °C)
CleanNA Particles CCF	2-8 °C

\* Als de lysisbuffer een witte neerslag in de fles laat zien, verwarm de buffer dan voor tot 37 °C om de neerslag op te lossen.

Stabiliteit tijdens gebruik: na opening van de Clean Cell Free DNA Kit kan het product gedurende 19 dagen veilig gebruikt worden.

Gebruik de Clean Cell Free DNA Kit niet meer na de vervaldatum op het etiket op de doos.

# Waarschuwingen

---

Lees de instructies zorgvuldig door voordat u de kit gaat gebruiken.

Meng geen verschillende LOT-nummers van kits.

Zorg ervoor dat de kitflessen niet beschadigd zijn en dat er geen vloeistof uit de flessen lekt. Gebruik geen kit die beschadigd is.

Het LOT-nummer op de verpakking van de CleanNA Particles CCF-doos verschilt van het LOT-nummer op de CleanNA Particles CCF-fles. Het LOT-nummer op de doos komt overeen met het LOT-nummer van de hele kit en het nummer op de flessen is specifiek voor de deeltjes. Aangezien de CleanNA Particles CCF bij een andere temperatuur worden bewaard, moet u vóór gebruik controleren of het LOT-nummer op de verpakking van de deeltjes overeenkomt met het LOT-nummer van de kit.

Elk ernstig incident dat zich met betrekking tot het hulpmiddel heeft voorgedaan, moet worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de gebruiker en/of de patiënt is gevestigd.

# Voorzorgsmaatregelen

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad (MSDS) voor alle veiligheidsinformatie. Vraag je SDS aan via [cleanna.com/sds-request](http://cleanna.com/sds-request).

## CCF Binding



Ontvlambare vloeistof en damp. Veroorzaakt ernstig oogletsel. Schadelijk bij inslikken. Veroorzaakt huidirritatie. Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. Bij contact met zuren komt zeer giftig gas vrij.



Verwijderd houden van hitte, hete oppervlakken, vonken, open vuur en andere ontstekingsbronnen. Niet roken. Houd de verpakking goed gesloten. Draag beschermende handschoenen, beschermende kleding, oogbescherming en gezichtsbescherming. Opslag- en opvangreservoir aarden. Gebruik explosieveilige elektrische/ventilatie-/verlichtings-/intrinsiek veilige apparatuur. Gebruik niet-vonkend gereedschap. Neem maatregelen om statische ontladingen te voorkomen. Was alle blootgestelde externe lichaamsdelen grondig na hantering. Niet eten, drinken of roken tijdens het gebruiken van dit product. Voorkom lozing in het milieu.



**BIJ CONTACT MET DE OGEN:** Spoel voorzichtig uit met water gedurende enkele minuten. Verwijder contactlenzen, als deze aanwezig en gemakkelijk te verwijderen zijn. Blijf spoelen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM/arts/eerste hulp.

**Bij brand:** Gebruik alcoholbestendig schuim of normaal eiwitshuim om te blussen.

**BIJ INSLIKKEN:** Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM/arts/eerste hulp als u zich niet goed voelt.

**BIJ CONTACT MET DE HUID:** Wassen met veel water en zeep.

**BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar):** Trek alle besmette kleding onmiddellijk uit. Spoel de huid af met water [of neem een douche].

Spoel de mond.

**Als huidirritatie optreedt:** Zoek medisch advies/medische hulp. Trek besmette kleding uit en was ze voordat u deze opnieuw gebruikt.

## CCF Lysis



Schadelijk voor in het water levende organismen. Veroorzaakt ernstig oogletsel. Veroorzaakt huidirritatie.

Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/ gezichtsbescherming. Voorkom lozing in het milieu.

**BIJ CONTACT MET DE OGEN:** Spoel voorzichtig uit met water gedurende enkele minuten. Verwijder contactlenzen, als deze aanwezig en gemakkelijk te verwijderen zijn. Blijf spoelen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of /arts.

Trek besmette kleding uit en was voordat u deze opnieuw gebruikt.

**BIJ CONTACT MET DE HUID:** Wassen met veel water en zeep.

**Als huidirritatie optreedt:** Zoek medisch advies/medische hulp.



## CCF Wash 1



Schadelijk bij inslikken. Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. Bij contact met zuren komt zeer giftig gas vrij.



Nevel/damp/spuitnevel niet inademen. Was alle blootgestelde externe lichaamsdelen grondig na hantering. Draag beschermende handschoenen, beschermende kleding, oogbescherming en gezichtsbescherming. Niet eten, drinken of roken tijdens het gebruiken van dit product. Voorkom lozing in het milieu.

**BIJ INSLIKKEN:** Spoel de mond. GEEN braken opwekken.

**BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar):** Trek alle besmette kleding onmiddellijk uit. Spoel de huid af met water [of neem een douche].

**BIJ CONTACT MET DE OGEN:** Spoel voorzichtig uit met water gedurende enkele minuten. Verwijder contactlenzen, als deze aanwezig en gemakkelijk te verwijderen zijn. Blijf spoelen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM/arts/eerste hulp.

Was besmette kleding voordat u deze opnieuw gebruikt.

**BIJ INSLIKKEN:** Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM/arts/eerste hulp als u zich niet goed voelt.

**BIJ INADEMEN:** Breng de persoon in de frisse lucht en zorg dat het ademen comfortabel blijft.

## Proteinase K Solution



Kan allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken bij inademing.

Voorkom inademing van nevel/damp/spuitnevel. Bij onvoldoende ventilatie ademhalingsbescherming dragen.

**BIJ INADEMEN:** Breng het slachtoffer in de frisse lucht en zorg dat hij/zij kan rusten in een houding die comfortabel is om te ademen.

**Bij ademhalings symptomen:** Bel een ANTIGIFCENTRUM of /arts.

**Opmerking:** Raadpleeg voor een veilige verwijdering de plaatselijke afvalvoorschriften.

# Kwaliteitscontrole

---

CleanNA produceert elke partij van de Clean Cell Free DNA Kit volgens vooraf bepaalde en gevalideerde protocollen in het kwaliteitsmanagementsysteem (QMS). Daarnaast wordt na de productie van elke partij een kwaliteitscontrole uitgevoerd om een consistente productkwaliteit te garanderen. Het QMS van CleanNA is EN-ISO 13485 gecertificeerd.

## Beperkingen

---

De werking van de Clean Cell Free DNA Kit is vastgesteld met menselijk plasma geconserveerd in de volgende antistollingsmiddelen:

- EDTA
- Citraat-fosfaat-dextrose (CPD)
- Natriumcitraat

Een reeks individuele plasmadonoren is opgenomen in de prestatie-evaluatie. De werking van de Clean Cell Free DNA Kit is niet getest met gehemolyseerd plasma.

Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de prestaties te valideren van monstermateriaal dat niet gebruikt is in de prestatie-evaluatie.

We bevelen het gebruik van een interne extractiecontrole per monster aan om een vals-negatief resultaat in downstream-detectiemethoden te identificeren, veroorzaakt door mogelijk onbekende remmende stoffen in afzonderlijke plasmamonsters van patiënten.


De prestaties van de kit zijn vastgesteld met downstream-detectiemethoden op basis van polymerasekettingreactie. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de prestaties van het apparaat te valideren bij gebruik met andere downstream-detectiemethoden.

Diagnostische resultaten na gebruik van de Clean Cell Free DNA Kit moeten worden geïnterpreteerd in combinatie met andere klinische bevindingen of laboratoriumbevindingen.

# Verzamelen en opslaan van monsters

## Plasma

De isolatieprocedure van nucleïnezuur moet onmiddellijk na de bloeddonatie en plasmascheiding beginnen\*. Als dit niet mogelijk is, kan plasma tot 24 uur bij 2-8 °C worden bewaard voor kortetermijnopslag en in geval van langere opslag kan plasma tot 4 weken bij -20 °C of -80 °C worden bewaard. Ontdooi de plasmamonsters bij kamertemperatuur voordat u het plasma gebruikt voor celvrije DNA-extractie.

 **Opmerking:** Monsters van menselijke oorsprong zijn potentieel besmettelijk. Neem de juiste maatregelen bij het hanteren ervan.

\* Voor plasmapreparatie voorafgaand aan het isoleren van celvrije nucleïnezuren uit bloedmonsters raden we de volgende procedure aan:

1. Centrifugeer volbloedbuisjes door de busjes 10 minuten te centrifugeren bij 3.000 rpm (1.900 x g) bij 4 °C.
2. Zuig het supernatant-plasma voorzichtig op, zonder de bloedcellen te verstoren.
3. Breng het supernatant-plasma over in een nieuw centrifugeerbuisje.
4. Om er zeker van te zijn dat het plasma vrij is van nucleïnehoudende bloedcellen, herhaalt u stap 1 tot en met 3 voor een tweede scheiding.
5. Het plasma kan in dit stadium gebruikt worden voor nucleïne-extractie.

**Voer de stappen 6-9 hieronder uit om ook intact chromatine van beschadigde bloedcellen uit het plasma te verwijderen. Merk op dat dit ook een kleine hoeveelheid cfDNA kan verwijderen die aanwezig is in grotere extracellulaire vesikels. Ga anders verder met stap 10.**

6. Centrifugeer de plasmamonsters bij 16.000 x g bij 4 °C met een vaste hoek rotor.
7. Verwijder het supernatant-plasma voorzichtig en zorg ervoor dat u de pellet niet verstoort.
8. Breng het plasma over naar een schoon busje.
9. Het plasma kan nu gebruikt worden voor nucleïne-extractie.
10. Bewaar het plasma volgens de bovenstaande instructies.

# Materialen en apparatuur te leveren door gebruiker

---

## Voor isolatie in afzonderlijke buisjes

Door de gebruiker te leveren materialen en reagentia voor het buisjesprotocol voor maximaal 1 ml monstername:

- Verse absolute alcohol
- Magnetisch scheidingsapparaat voor buisjes van 1,5/2,0 ml
- Vortexer
- Schudder of wip-wap
- Incubator die kan worden ingesteld op 60 °C
- 1,5 ml micro-centrifugeerbuisje(s)
- 15 ml micro-centrifugeerbuisje(s)

## Voor isolatie met behulp van 48-well platen

Door de gebruiker te leveren materialen en reagentia voor het plaatprotocol voor maximaal 1 ml monstername:

- Verse absolute alcohol
- 48-well magnetische plaat, bijvoorbeeld Alpaqua, cat. nr. A000530
- Vortexer
- Schudder of wip-wap
- Incubator die kan worden ingesteld op 60 °C
- 48-well plaat (platen), 3,5 ml, bijvoorbeeld Wuxi NEST Biotechnology, cat. nr. 504102
- 96-well plaat (platen) of 96-well PCR-plaat (platen)

# Bereiding van reagentia

---

## CCF Wash 2

Verdun CCF Wash 2 als volgt met verse absolute ethanol en bewaar bij kamertemperatuur.

Kit	Toe te voegen absolute ethanol
CCF-D0384	180 ml

# Clean Cell Free DNA Kit - Protocol buisjes voor eenmalig gebruik

## Vóór het starten:

- Stel de incubator in op 60 °C.
- Zorg ervoor dat CCF Lysis volledig is opgelost. Als dat niet het geval is, verwarm dan voor tot 37 °C.
- Schud of draai de CleanNA Particles CCF om de deeltjes volledig te resuspenderen voor gebruik.
- Bereid CCF Wash 2 volgens de instructies in het gedeelte Bereiding van reagentia op pagina 13.

## Protocol:

1. Voeg maximaal 1 ml plasmamonster toe aan een centrifugeerbuisje van 15 ml (niet meegeleverd).

**⚠ Opmerking:** Overschrijd het maximale monstervolume niet, dit zal de efficiëntie van de extractieprocedure verminderen.

2. Als het monstervolume minder dan 1 ml is, breng het monstervolume dan op 1 ml met Elution Buffer (meegeleverd met deze kit).
3. Voeg 15 µl Proteinase K Solution toe.
4. Voeg 67 µl CCF Lysis toe.
5. Draai op maximale snelheid of pipetteer op en neer om grondig te mengen.
6. Incubeer gedurende 20 minuten bij 60 °C. Meng door elke 10 minuten om te keren of te schudden.
7. Incubeer gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur.

**⚠ Opmerking:** Deze incubatiestap is cruciaal om de monstertemperatuur te laten dalen en de meest efficiënte DNA-binding aan de CleanNA Particles CCF te verkrijgen.

8. Voeg 1 ml CCF Binding toe. Draai gedurende 30 seconden op maximale snelheid of pipetteer op en neer om grondig te mengen.
9. Voeg 10 µl CleanNA Particles CCF toe. Keer het monster 10 keer om of pipetteer op en neer om te mengen.

**⚠ Opmerking:** Schud of draai de CleanNA Particles CCF om deeltjes volledig te resuspenderen voor gebruik.

10. Incubeer 10 minuten bij kamertemperatuur onder voortdurend mengen. Het monster moet gedurende de incubatieperiode van 10 minuten gemengd worden door te schudden of te schommelen.

**⚠ Opmerking:** Niet op hoge snelheden draaien, omdat dit schuimvorming veroorzaakt, wat resulteert in een lagere opbrengst. De mengsnelheid moet zo worden ingesteld dat de CleanNA Particles CCF continu in oplossing gesuspenseerd blijven.

11. Breng 1 ml van het mengsel over in een 1,5 ml micro-centrifugeerbuisje (niet meegeleverd).
12. Plaats het buisje op een magnetisch scheidingsapparaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.
13. Incubeer bij kamertemperatuur totdat de CleanNA Particles CCF volledig uit de oplossing zijn.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes zijn verwijderd uit de oplossing, kraalverlies kan een lagere opbrengst veroorzaken.

14. Aspireer het heldere supernatant en gooi het weg.

**Opmerking:** De CleanNA Particles CCF niet verstoren of pipetteren. Dit kan een lagere opbrengst veroorzaken.

15. Breng het overgebleven mengsel van stap 11 over in het 1,5 ml microcentrifugeerbuisje dat bij de vorige stappen is gebruikt.
16. Plaats het buisje op een magnetisch scheidingsapparaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.
17. Incubeer bij kamertemperatuur totdat de CleanNA Particles CCF volledig uit de oplossing zijn.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes zijn verwijderd uit de oplossing, kraalverlies kan een lagere opbrengst veroorzaken.

18. Aspireer het heldere supernatant en gooi het weg.

**Opmerking:** De CleanNA Particles CCF niet verstoren of pipetteren. Dit kan een lagere opbrengst veroorzaken.

19. Haal het buisje met de CleanNA Particles CCF uit het magnetische scheidingsapparaat.
20. Voeg 500 µl CCF Wash 1 toe.
21. Resuspendeer de CleanNA Particles CCF door 2 minuten te draaien of 20 keer op en neer te pipetteren.

**Opmerking:** Voor een goede zuiverheid is volledige resuspensie van de CleanNA Particles CCF essentieel.

22. Plaats het buisje op het magnetisch scheidingsapparaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.
23. Incubeer bij kamertemperatuur totdat de CleanNA Particles CCF volledig uit de oplossing zijn.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes zijn verwijderd uit de oplossing, kraalverlies kan een lagere opbrengst veroorzaken.

24. Aspireer het heldere supernatant en gooi het weg.

**Opmerking:** De CleanNA Particles CCF niet verstoren of pipetteren. Dit kan een lagere opbrengst veroorzaken.

25. Herhaal stappen 19-24 voor een tweede stap CCF Wash 1.
26. Haal het buisje met de CleanNA Particles CCF uit het magnetische scheidingsapparaat.
27. Voeg 500 µl CCF Wash 2 toe.

**Opmerking:** CCF Wash 2 moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met absolute ethanol. Raadpleeg pagina 13 voor instructies.

28. Resuspendeer de CleanNA Particles CCF door 2 minuten te draaien of 20 keer op en neer te pipetteren.
29. Plaats het buisje op het magnetisch scheidingsapparaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.
30. Incubeer bij kamertemperatuur totdat de CleanNA Particles CCF volledig uit de oplossing zijn.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes zijn verwijderd uit de oplossing, kraalverlies kan een lagere opbrengst veroorzaken.

31. Aspireer het heldere supernatant en gooi het weg.

**Opmerking:** De CleanNA Particles CCF niet verstoren of pipetteren. Dit kan een lagere opbrengst veroorzaken.

32. Herhaal stappen 26-31 voor een tweede maal CCF Wash 2.
33. Haal het buisje ongeveer 30 seconden uit het magnetische scheidingsapparaat.
34. Plaats het buisje op het magnetisch scheidingsapparaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes zijn verwijderd uit de oplossing, kraalverlies kan een lagere opbrengst veroorzaken.

35. Aspireer en gooi de achtergebleven CCF Wash 2 weg.

**Opmerking:** De CleanNA Particles CCF niet verstoren of pipetteren. Dit kan een lagere opbrengst veroorzaken.

36. Laat het open buisje gedurende 25 minuten op het magnetisch scheidingsapparaat om de CleanNA Particles CCF te drogen.
37. Haal het buisje met de CleanNA Particles CCF uit het magnetische scheidingsapparaat.
38. Voeg 30-60 µl Elution Buffer toe. Resuspendeer de CleanNA Particles CCF door te draaien of 20 keer op en neer te pipetteren.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat de Elution Buffer de CleanNA Particles CCF bedekt. Te lage elutie volumes veroorzaken een lagere opbrengst. Te hoge volumes veroorzaken een lagere concentratie DNA in het eluaat.

39. Incubeer gedurende 5 minuten bij kamertemperatuur, terwijl u constant draait.
40. Plaats het buisje op het magnetisch scheidingsapparaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.
41. Incubeer bij kamertemperatuur totdat de CleanNA Particles CCF volledig uit de oplossing zijn.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes uit de oplossing zijn verwijderd. Het achterblijven van kralen kan remming veroorzaken tijdens downstream PCR.

42. Breng het geklaarde supernatant met gezuiverd DNA over in een schoon 1,5 ml microcentrifugeerbuisje (niet meegeleverd).
43. Bewaar de geëxtraheerde celvrije nucleïnezuren bij -20 °C.



# Clean Cell Free DNA Kit - Protocol 48-well platen

## Vóór het starten:

- Stel de incubator in op 60 °C.
- Zorg ervoor dat CCF Lysis volledig is opgelost. Als dat niet het geval is, verwarm dan voor tot 37 °C.
- Schud of draai de CleanNA Particles CCF om de deeltjes volledig te resuspenderen voor gebruik.
- Bereid CCF Wash 2 volgens de instructies in het gedeelte Bereiding van reagentia op pagina 13.

## Protocol:

1. Voeg tot 1 ml plasma/serummonsters toe aan een 48 diepe well plaat (niet meegeleverd).

**⚠ Opmerking:** Overschrijd het maximale monstervolume niet, dit zal de efficiëntie van de extractieprocedure verminderen.

2. Als het monstervolume minder dan 1 ml is, breng het monstervolume dan op 1 ml met Elution Buffer (meegeleverd met deze kit).
3. Voeg 15 µl Proteinase K Solution toe.
4. Voeg 67 µl CCF Lysis toe en seal de plaat.
5. Draai op maximale snelheid of pipetteer op en neer om grondig te mengen.
6. Incubeer gedurende 20 minuten bij 60 °C. Meng door elke 10 minuten om te keren of te schudden.
7. Incubeer gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur.

**⚠ Opmerking:** Deze incubatiestap is cruciaal om de monstertemperatuur te laten dalen en de meest efficiënte DNA-binding aan de CleanNA Particles CCF te verkrijgen.

8. Voeg 1 ml CCF Binding toe. Draai gedurende 30 seconden op maximale snelheid of pipetteer op en neer om grondig te mengen.
9. Voeg 10 µl CleanNA Particles CCF toe. Keer de monsters 10 keer om of pipetteer op en neer om te mengen.

**⚠ Opmerking:** Schud of draai de CleanNA Particles CCF om deeltjes volledig te resuspenderen voor gebruik.

10. Incubeer 10 minuten bij kamertemperatuur onder voortdurend mengen. De monsters moet gedurende de incubatieperiode van 10 minuten gemengd worden door te schudden of te schommelen.

**⚠ Opmerking:** Niet op hoge snelheden draaien, omdat dit schuimvorming veroorzaakt, wat resulteert in een lagere opbrengst. De mengsnelheid moet zo worden ingesteld dat de CleanNA Particles CCF continu in oplossing gesuspenderd blijven.

11. Plaats de 48-well plaat op de 48-well magnetische plaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren. De deeltjes uit elke well worden verzameld door de magneten op de bodem.
12. Incubeer bij kamertemperatuur totdat de CleanNA Particles CCF volledig uit de oplossing zijn.

**⚠ Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes zijn verwijderd uit de oplossing, kraalverlies kan een lagere opbrengst veroorzaken.

13. Aspireer het heldere supernatant en gooi het weg.

**⚠ Opmerking:** De CleanNA Particles CCF niet verstoren of pipetteren. Dit kan een lagere opbrengst veroorzaken.

14. Haal de 48-well plaat met de CleanNA Particles CCF uit het magnetische scheidingsapparaat.
15. Voeg 500 µl CCF Wash 1 toe.
16. Resuspendeer de CleanNA Particles CCF door 2 minuten te draaien of 20 keer op en neer te pipetteren.

**⚠ Opmerking:** Voor een goede zuiverheid is volledige resuspensie van de CleanNA Particles CCF essentieel.

17. Breng de geresuspendeerde CleanNA Particles CCF over in een nieuwe 48 diepe well plaat (niet meegeleverd).

**⚠ Opmerking:** Blijf werken met 48 wells voor de resterende procedure.

18. Plaats de 48-well plaat op de 48-well magnetische plaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.
19. Incubeer bij kamertemperatuur totdat de CleanNA Particles CCF volledig uit de oplossing zijn.

**⚠ Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes zijn verwijderd uit de oplossing, kraalverlies kan een lagere opbrengst veroorzaken.

20. Aspireer het heldere supernatant en gooi het weg.

**⚠ Opmerking:** De CleanNA Particles CCF niet verstoren of pipetteren. Dit kan een lagere opbrengst veroorzaken.

21. Haal de 48-well plaat met de CleanNA Particles CCF uit het magnetische scheidingsapparaat.
22. Voeg 500 µl CCF Wash 1 toe.
23. Resuspendeer de CleanNA Particles CCF door 2 minuten te draaien of 20 keer op en neer te pipetteren.

**⚠ Opmerking:** Voor een goede zuiverheid is volledige resuspensie van de CleanNA Particles CCF essentieel.

24. Plaats de 48-well plaat op de 48-well magnetische plaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.
25. Incubeer bij kamertemperatuur totdat de CleanNA Particles CCF volledig uit de oplossing zijn.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes zijn verwijderd uit de oplossing, kraalverlies kan een lagere opbrengst veroorzaken.

26. Aspireer het heldere supernatant en gooi het weg.

**Opmerking:** De CleanNA Particles CCF niet verstoren of pipetteren. Dit kan een lagere opbrengst veroorzaken.

27. Haal de 48-well plaat met de CleanNA Particles CCF uit het magnetische scheidingsapparaat.

28. Voeg 500 µl CCF Wash 2 toe.

**Opmerking:** CCF Wash 2 moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met absolute ethanol. Raadpleeg pagina 13 voor instructies.

29. Resuspendeer de CleanNA Particles CCF door 2 minuten te draaien of 20 keer op en neer te pipetteren.

30. Plaats de 48-well plaat op de 48-well magnetische plaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.

31. Incubeer bij kamertemperatuur totdat de CleanNA Particles CCF volledig uit de oplossing zijn.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes zijn verwijderd uit de oplossing, kraalverlies kan een lagere opbrengst veroorzaken.

32. Aspireer het heldere supernatant en gooi het weg.

**Opmerking:** De CleanNA Particles CCF niet verstoren of pipetteren. Dit kan een lagere opbrengst veroorzaken.

33. Herhaal stappen 28-32 voor een tweede stap CCF Wash 2.

34. Haal de 48-well plaat met de CleanNA Particles CCF uit het magnetische scheidingsapparaat.

35. Plaats de 48-well plaat op de 48-well magnetische plaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes zijn verwijderd uit de oplossing, kraalverlies kan een lagere opbrengst veroorzaken.

36. Aspireer en gooi de achtergebleven CCF Wash 2 weg.

**Opmerking:** De CleanNA Particles CCF niet verstoren of pipetteren. Dit kan een lagere opbrengst veroorzaken.


37. Laat het buisje gedurende 25 minuten op het magnetisch scheidingsapparaat om de CleanNA Particles CCF te drogen.

38. Haal de 48-well plaat met de CleanNA Particles CCF uit het magnetische scheidingsapparaat.

39. Voeg 30-60 µl Elution Buffer toe. Resuspendeer de CleanNA Particles CCF door te draaien of 20 keer op en neer te pipetteren.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat de Elution Buffer de CleanNA Particles CCF bedekt. Te lage elutievolumes veroorzaken een lagere opbrengst. Te hoge volumes veroorzaken een lagere concentratie DNA in het eluaat.

40. Incubeer gedurende 5 minuten bij kamertemperatuur, terwijl u constant mengt door te pipetteren, schudden of draaien.
41. Plaats de 48-well plaat op de 48-well magnetische plaat om de CleanNA Particles CCF te magnetiseren.
42. Incubeer bij kamertemperatuur totdat de CleanNA Particles CCF volledig uit de oplossing zijn.

 **Opmerking:** Zorg ervoor dat u incubeert totdat alle deeltjes uit de oplossing zijn verwijderd. Het achterblijven van kralen kan remming veroorzaken tijdens downstream PCR.

43. Breng het geklaarde supernatant met gezuiverd DNA over in een schoon 96 well plaat of naar schone aparte buisjes (niet meegeleverd).
44. Bewaar de geëxtraheerde celvrije nucleïnezuren bij -20 °C.

# Handleiding probleemoplossing









Gebruik deze handleiding om eventuele problemen op te lossen. Neem voor verdere ondersteuning contact op met uw plaatselijke distributeur.

## Mogelijke problemen en tips

Probleem	Oorzaak	Tip
Lage DNA-opbrengst	Onvolledige resuspensie van CleanNA Particles CCF.	Resuspendeer de CleanNA Particles CCF door krachtig te draaien voor gebruik.
	Inefficiënte binding van het DNA aan de CleanNA Particles CCF.	Laat het monster 10 minuten afkoelen bij kamertemperatuur voordat CCF Binding wordt toegevoegd.
		Zorg ervoor dat elk monster tijdens de bindingsincubatie continu wordt gemengd.
	Verlies van CleanNA Particles CCF tijdens werking.	Verstoort de CleanNA Particles CCF niet tijdens het opzuigen.
	DNA blijft gebonden aan CleanNA Particles CCF.	Verdun CCF Wash 2 door vóór gebruik het juiste volume absolute ethanol toe te voegen (zie pagina 13 voor instructies).
		Zorg ervoor dat de Elution Buffer alle CleanNA Particles CCF bedekt.
Overgebleven ethanol.	Droog de CleanNA Particles CCF bij kamertemperatuur gedurende 25 minuten vóór elutie.	
CleanNA Particles CCF verdwijnen niet volledig uit de oplossing	Een te korte magnetisatietijd.	Verhoog de verzameltijd op het magnetische scheidingsapparaat.
Copurificatie van hoog moleculair gewicht	Er moeten twee stappen CCF Wash 1 worden uitgevoerd.	Voer twee stappen CCF Wash 1 uit volgens de instructies in de gebruiksaanwijzing. Verhoog indien nodig het volume van de wasbuffer.
Problemen in downstream-toepassingen	Overgebleven zout.	CCF Wash 2 moet op kamertemperatuur zijn.

Abnormale gegevens bioanalyser	Bioanalyser vertoont meerdere scherpe pieken tijdens analyse.	Zorg ervoor dat na elke wasstap alle sporen van het gewiste supernatant worden verwijderd.
		Zorg ervoor dat de buis/plaat 25 minuten wordt geïncubeerd om de CleanNA Particles CCF te drogen.
	Bioanalyser laat een basislijn zien die tegen het einde stijgt.	Controleer de bioanalyserchip op luchtbellen. Laad de monsters op een nieuwe, vers geprepareerde chip.
	De bioanalyser toont een hoge blob aan het begin van het spoor.	Controleer of het gezuiverde monster geen sporen van CleanNA Particles CCF bevat.

# Symbolen

	In-vitro diagnostiek
	CE-markering. Dit product voldoet aan de vereisten voor CE-IVD hulpmiddelen volgens de Verordening (EU) 2017/746 betreffende medische hulpmiddelen voor in-vitro diagnostiek
	Bestelnummer
	Fabrikant
	Let op
	Temperatuurbereik
	Vervaldatum
	Partijnummer

# Bestelinformatie

---

Neem contact op met uw plaatselijke distributeur om te bestellen.

Product	Onderdeelnummer
Clean Cell Free DNA Kit (384 bereidingen)	CCF-D0384

# Revisiegeschiedenis document

---

Versie handleiding	Datum revisie	Gereviseerd hoofdstuk	Uitleg revisie
1	2023/OKT/02	N.v.t.	Eerste versie
2	2024/FEB/08	Eerste pagina en Schematisch overzicht	Update link naar webpagina en schematisch overzicht.



# Aantekeningen

---

# Aantekeningen

---

# Aantekeningen

---

## Contact

Coenecoop 75 | 2741 PH Waddinxveen | Nederland

T: +31 (0) 182 22 33 50 | F: +31 (0) 182 22 33 98 | [info@cleanna.com](mailto:info@cleanna.com)

[www.cleanna.com](http://www.cleanna.com)

