



Clean Cell Free DNA Kit

Användarinstruktioner

V. 2 FEBRUARI 2024



REF CCF-D0384



CleanNA, Coenecoop 75, 2741 PH, Waddinxveen, Nederländerna

Avsedd för in vitro-diagnostik.

Informationen i detta dokument kan ändras oaviserad. Besök regelbundet www.cleanna.com/download-ccf för att söka efter uppdateringar av detta dokument.

Friskrivningsklausul

CleanNA frånsäger sig därmed alla garantier med avseende på detta dokument, uttryckta eller underförstådda, inklusive men inte begränsat till produktens säljbarhet eller lämplighet för ett visst ändamål. I den utsträckning som tillåts enligt lag ska CleanNA inte vara ansvarigt, vare sig det är enligt avtal, skadestånd, garantier eller enligt någon annan lag eller grund, för särskilda, tillfälliga, indirekta, påföljande eller bestraffande skador i samband med eller som uppstår på grund av detta dokument, inklusive, men inte begränsat till användningen därav, oavsett om sådana skador kunde förutses, och oavsett om CleanNA har informerats om möjligheten till sådana skador.

Varumärken

Varumärken som nämns i dokumentet tillhör sina respektive ägare.

Kontakt

Coenecoop 75 | 2741 PH Waddinxveen | Nederländerna | Tel: +31 (0) 182 22 33 50
Fax: +31 (0) 182 22 33 98 | info@cleanna.com | www.cleanna.com

Innehåll

Avsedd användning	4
Avsedd användare	4
Introduktion och metodbeskrivning.....	4
Schematisk översikt.....	5
Material som medföljer.....	6
Förvaring, hantering och frakt av reagenser	6
Varningar	7
Försiktighetsåtgärder	8
Kvalitetskontroll	10
Begränsningar	10
Insamling och förvaring av prov	11
Material och utrustning som ska tillhandahållas av användaren.....	12
Beredning av reagenserna	13
Clean Cell Free DNA Kit - protokoll för enstaka rör	14
Clean Cell Free DNA Kit-protokoll för 48-brunnars plattor.....	17
Felsökningsguide	21
Symboler	23
Beställningsinformation.....	24
Revisionshistorik	24
Anmärkningar.....	25

Avsedd användning

Den avsedda användningen av enheten är att extrahera cirkulerande cellfri DNA (cfDNA) från humant plasma med tillräcklig renhet för att kunna användas i efterföljande detektionsförfaranden baserade på principen om polymeraskedjereaktion (PCR).

Avsedd användare

De avsedda användarna är yrkesverksamma laboratorieanställda utbildade i molekylärbiologiska tekniker.

Introduktion och metodbeskrivning

Clean Cell Free DNA Kit är utformat för isolering av cellfritt DNA från mänsklig plasma. Hela proceduren kan genomföras både via manuell och automatiserad provhantering.

Genom att kombinera vårt patenterade buffersystem med bekvämligheten med vårt magnetiska CleanNA CCF-partiklar eliminerar behovet av vakuumsteg eller separertrattar under hela proceduren. Därför är Clean Cell Free DNA Kit en enkel process med endast 4 steg: lysa, binda, tvätta och eluera.

CleanNA Particles CCF erbjuder en hög bindningskapacitet och tillsammans med buffertsystemet passar den till mindre DNA-fragment (120-400 baspar). Denna kombination minskar risken för kontaminering med genomiskt DNA. Den höga bindningskapaciteten hos CleanNA-partiklarna CCF minskar mängden partiklar som krävs under bindningsstegen och minskar därigenom elueringsvolymen. Det möjliggör att isolerat cellfritt DNA från 1 ml plasma kan elueras i så liten volym som 30-60 µl.

Det isolerade cellfria DNA:t är klart att användas i (q)PCR i senare led.

Schematisk översikt

Den unikt formulerade lysningsbufferten frigör det cirkulerande DNA från proteiner och vesiklar som är bundna till DNA, samtidigt som deoxiribonukleaser (DNaser) inaktiveras. DNA isoleras från lysaten i ett steg genom att binda DNA:t till ytan av de magnetiska partiklarna. De magnetiska partiklarna från CleanNA separeras sedan från lysaten med hjälp av en magnetisk separator. Efter några snabba tvättsteg för att ta bort spårföreningar elueras det rena DNA:et från CleanNA-partiklarna med hjälp av Elution Buffer.

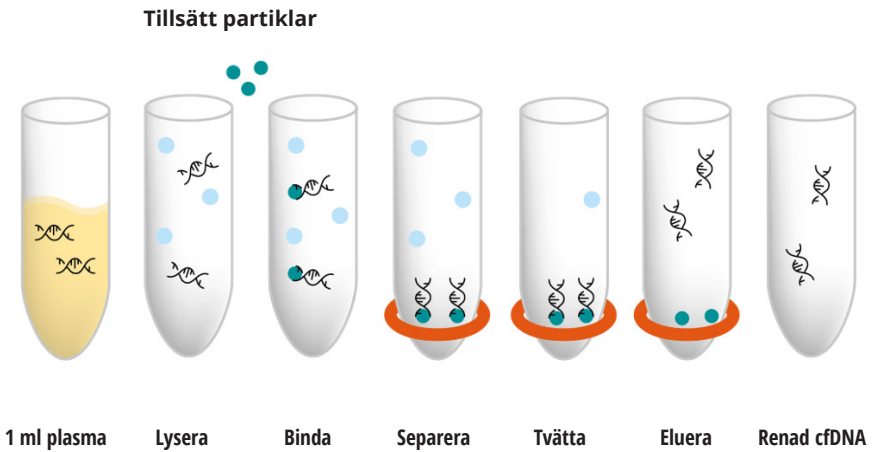


Bild 1: Schematisk översikt av Clean Cell Free DNA Kit-proceduren.

Material som medföljer

Kittets innehåll:

Komponent	Volym 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

Förvaring, hantering och frakt av reagenser

Frakt av Clean Cell Free DNA Kit bör göras vid rumstemperatur (15-25 °C).

Komponenterna i Clean Cell Free DNA Kit får inte frysas.

Komponent	Förvaring
CCF Lysis*	Rumstemperatur (15-25°C)
CCF Binding	Rumstemperatur (15-25°C)
CCF Wash 1	Rumstemperatur (15-25°C)
CCF Wash 2	Rumstemperatur (15-25°C)
Elution Buffer	Rumstemperatur (15-25°C)
Proteinase K Solution	Rumstemperatur (15-25°C) (För lagring över 12 månader, förvara vid 2-8°C)
CleanNA Particles CCF	2-8°C

* Om det har bildats en vit utfällning i lysisbuffertflaskan, förvärm bufferten till 37°C för att lösa upp utfällningen.

Stabilitet under användning: Clean Cell Free DNA Kit kan användas säkert under en period av 19 dagar efter öppnandet.

Använd inte Clean Cell Free DNA Kit efter utgångsdatumet som finns på en etikett på den yttre kartongen.

Varningar

Läs noggrant igenom instruktionerna innan du använder kitet.

Blanda inte flera kit med olika serienummer (LOT number).

Kontrollera, att flaskorna i kitet inte är skadade och att ingen vätska har läckt från dem. Använd inte ett kit om det har skadats.

Serienumret (LOT-number) på CleanNA Particles CCF-boxförpackningen skiljer sig från serienumret (LOT-number) på CleanNA Particles CCF-flaskan. Serienumret på kartongen matchar serienumret för hela kittet och det på flaskorna är specifikt för de magnetiska partiklarna. Eftersom CleanNA Particles CCF förvaras vid en annan temperatur, se till att serienumret på kartongen för partiklarna matchar serienumret för hela kittet innan användning.

Alla allvarliga incidenter som har inträffat i samband med enheten ska rapporteras till tillverkaren och den behöriga myndigheten i den medlemsstat där användaren och/eller patienten är etablerad.

Försiktighetsåtgärder

För all säkerhetsinformation se säkerhetsdatabladet. Begär din SDS via cleanna.com/sds-request.

CCF Binding



Brandfarlig vätska och ånga. Orsakar allvarlig ögonskada. Skadligt vid förtäring. Orsakar hudirritation. Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra.



Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppen låga eller andra antändningskällor. Rökning förbjuden. Förvara behållaren väl tillsluten. Använd skyddshandskar, skyddskläder, ögonskydd och ansiktsskydd. Jorda och potentialförbind behållare och mottagarutrustning. Använd explosionssäker elektrisk/ventilerande/belysning/egensäker utrustning. Använd verktyg som inte ger upphov till gnistor. Vidta åtgärder mot statisk elektricitet. Tvätta alla utsatta kroppsdelar omedelbart efter att arbetet har avslutats. Åt inte, drick inte eller rök inte under hanteringen av den här produkten. Undvik utsläpp till miljön.



VID ÖGONKONTAKT: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut kontaktlinser om du har några och de är lätta att få ut. Fortsätt skölja.

Ring omedelbart till GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/en läkare/första hjälpen.

Vid händelse av brand: Använd alkoholbeständigt skum eller vanligt proteinskum för att släcka elden.

VID FÖRTÄRING: Ring till GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/en läkare/första hjälpen om du mår dåligt.

VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten.

VID HUD (eller hår) KONTAKT: Ta omedelbart av alla förorenade kläder. Skölj huden med vatten [eller duscha].

Rengör munnen.

Vid hudirritation: Uppsök läkare.

Ta av nedstänkta kläder och tvätta dem innan de används igen.

CCF Lysis



Skadliga effekter för vattenlevande organismer. Orsakar allvarlig ögonskada. Orsakar hudirritation.

Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. Undvik utsläpp till miljön.

VID ÖGONKONTAKT: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut kontaktlinser om du har några och de är lätta att få ut. Fortsätt skölja.

Ring omedelbart till GIFTINFORMATIONSCENTRALEN eller en läkare.

Ta av nedstänkta kläder och tvätta dem innan de används igen.

VID HUDKONTAKT: Tvätta noggrant med mycket vatten och tvål.

Vid hudirritation: Uppsök läkare.

CCF Wash 1



Skadligt vid förtäring. Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra.



Undvik inandning av dimma, ångor eller spray. Tvätta alla utsatta kroppsdelar omedelbart efter att arbetet har avslutats. Använd skyddshandskar, skyddskläder, ögonskydd och ansiktsskydd. Ät inte, drick inte eller rök inte under hanteringen av den här produkten. Undvik utsläpp till miljön.

VID FÖRTÄRING: Skölj munnen. Framkalla INTE kräkning.

VID HUD (eller hår) KONTAKT: Ta omedelbart av alla förorenade kläder. Skölj huden med vatten [eller duscha].

VID ÖGONKONTAKT: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut kontaktlinser om du har några och de är lätta att få ut. Fortsätt skölja.

Ring omedelbart till GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/en läkare/första hjälpen.

Tvätta förorenade kläder innan de används på nytt.

VID FÖRTÄRING: Ring till ett GIFTINFORMATIONSCENTRAL/en läkare/första hjälpen om du mår dåligt.

VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas.

Proteinase K Solution



Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning.

Undvik inandning av dimma, ångor eller spray. Använd andningsskydd vid otillräcklig ventilation.

VID INANDNING: Flytta den drabbade till frisk luft och vila i en position som underlättar andningen.

Vid besvär i luftvägarna: Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN eller en läkare.

Obs: För säker avfallshantering hänvisas till de lokala avfallsföreskrifterna.

Kvalitetskontroll

CleanNA producerar varje parti av Clean Cell Free DNA Kit enligt fastställda och validerade protokoll i kvalitetsstyrningssystem (QMS). Dessutom utförs en kvalitetskontroll efter produktion av varje parti för att säkerställa en jämn produktkvalitet. CleanNAs QMS är en EN-ISO 13485-certifierat produkt.

Begränsningar

Prestandan för Clean Cell Free DNA Kit har fastställts med human plasma konserverad i följande antikoagulanter:

- EDTA
- Citrat-fosfat-dextros (CPD)
- Natriumcitrat

Prestationsutvärderingen har gjorts med ett antal individuella plasmadonatorer. Prestandan för Clean Cell Free DNA Kit har inte testats med hemolyserad plasma.

Det är användarens ansvar att validera prestandan för provningsmaterialet som inte används i prestandautvärderingen.

Vi rekommenderar användning av en intern extraktionskontroll per prov för att identifiera falska negativa resultat i efterföljande metoder, orsakade av potentiellt okända inhiberande substanser i enskilda patientens plasmaprover.

Kitets prestanda har fastställts med detekteringsmetoder efter DNA-rening, baserade på polymerkedjereaktion (PCR). Det är användarens ansvar att validera prestandan för provningsmaterialet som inte används i efterföljande metoder.

Diagnostiska resultat som genereras efter användning av Clean Cell Free DNA Kit måste tolkas i samband med andra kliniska eller laboratoriefynd.

Insamling och Förvaring av prov

Plasma

Isolering av nukleinsyror bör påbörjas omedelbart efter blodgivning och plasmaseparering.*. Om detta inte är möjligt kan plasman förvaras i upp till 24 timmar vid 2-8° C för kortvarig förvaring, och vid längre förvaring kan plasman förvaras i upp till 4 veckor vid -20° C eller -80° C. Tina plasmaproverna i rumstemperatur innan plasman används för extraktion av cellfritt DNA.

⚠ Obs: Prov tagna från människor är potentiellt smittsamma. Vidtag lämpliga åtgärder när du hanterar dem.

* För plasmaberedning, innan isolering av cellfria nukleinsyror från blodprover, rekommenderar vi följande procedur:

1. Centrifugera rör/rören med helblod i 10 minuter vid 3 000 rpm (1 900 x g) vid 4°C.
2. Aspirera plasmasupernatanten försiktigt utan att störa blodcellerna.
3. Överför plasmasupernatanten till ett nytt centrifugrör.
4. För att säkerställa att plasman är fri från kärnförsedda blodkroppar, upprepa steg 1 till 3 för en andra separation.
5. Plasman kan användas för utvinning av nukleinsyror i detta skede.

Utför steg 6-9 nedan för att även avlägsna intakt kromatin från Brustna blodkroppar från plasman. Observera att detta också kan avlägsna en liten mängd cfDNA som finns i större extracellulära vesiklar. Annars fortsätt med steg 10.

6. Centrifugera plasmaproverna vid 16 000 x g vid 4°C med en rotor med fast vinkel.
7. Ta försiktigt bort plasmasupernatanten, se till att inte störa pelleten.
8. Överför plasman till ett nytt rör.
9. Plasman kan användas för utvinning av nukleinsyror.
10. Förvara plasman enligt instruktionerna ovan.

Material och utrustning som ska tillhandahållas av användaren

För isolering i enstaka rör

Material och reagens som ska tillhandahållas av användaren för protokoll för enstaka rör, upp till 1 ml:s prover:

- Färskt absolut etanol
- Magnetisk separationsenhet för 1,5/2,0 ml rör
- Vortex
- Skakbord eller skakplatta
- Inkubator som kan ställas in på 60°C
- 1,5 ml-mikrocentrifugrör
- 15 ml-mikrocentrifugrör

För isolering i 48-brunnars plattformat

Material och reagens som ska tillhandahållas av användaren för protokoll för plattor, upp till 1 ml:s prover:

- Färskt absolut etanol
- 48-brunnars magnetisk platta, exempelvis Alpaqua CatNo# A000530
- Vortex
- Skakbord eller skakplatta
- Inkubator som kan ställas in på 60°C
- 48 brunnars Deepwell-platta (plattor); exempelvis Wuxi NEST Biotechnology CatNo# 504102
- 96-brunnars Deepwell-platta (plattor) eller 96-brunnars PCR-platta (plattor)

Beredning av reagenserna

CCF Wash 2

Späd CCF Wash 2 med färsk absolut etanol enligt följande och förvara i rumstemperatur.

Kit	Tillsätt absolut etanol
CCF-D0384	180 ml

Clean Cell Free DNA Kit - protokoll För enstaka rör

Innan du börjar:

- Ställ in inkubatorn på 60°C.
- Se till att CCF Lysis är helt upplöst. Om inte, förvärm det till 37°C.
- Skaka eller vortexa CleanNA Particles CCF för att helt slamma upp partiklarna innan användning.
- Gör i ordning CCF Wash 2 enligt anvisningarna i avsnittet "Beredning av reagenser" på sidan 13.

Protokoll:

1. Tillsätt upp till 1 ml plasmaprov till ett 15 ml centrifugrör (medföljer ej).

⚠ Obs: Överskrid inte den maximala provvolymen, detta kommer att minska effektiviteten i extraktionsproceduren.

2. Om provvolymen är mindre än 1 ml, höj provvolymen till 1 ml med elueringsbuffert (medföljer detta kit).
3. Tillsätt 15 µl Proteinase K Solution.
4. Tillsätt 67 µl CCF Lysis.
5. Vortexa med maximal hastighet eller pipettera upp och ner för att blanda ordentligt.
6. Inkubera vid 60°C i 20 minuter. Blanda genom att invertera eller skaka var 10:e minut.
7. Inkubera i rumstemperatur i 10 minuter.

⚠ Obs: Denna inkubationssteg är avgörande för att provtemperaturen ska sjunka och uppnå den mest effektiva DNA-bindningen till CleanNA Particles CCF.

8. Tillsätt 1 ml CCF Binding. Vortexa med maximal hastighet i 30 sekunder eller pipettera upp och ned för att blanda ordentligt.
9. Tillsätt 10 µl CleanNA Particles CCF. Invertera provet 10 gånger eller pipettera upp och ned för att blanda.

⚠ Obs: Skaka eller vortexa CleanNA Particles CCF för att helt slamma upp partiklarna innan användning.

10. Inkubera i 10 minuter i rumstemperatur och blanda kontinuerlig. Proverna måste blandas under hela de 10 minuters inkubationen genom skakning eller gungning.

⚠ Obs: Vortexa inte vid höga hastigheter eftersom detta kommer att orsaka skumbildning, vilket resulterar i ett minskat utbyte. Blandningshastigheten bör ställas in så att CleanNA Particles CCF kontinuerligt hålls suspenderade i lösningen.

11. Överför 1 ml av blandningen till ett 1,5 ml mikrocentrifugrör (medföljer ej).
12. Placera röret på en magnetisk separationsenhet för att magnetisera CleanNA Particles CCF.

13. Inkubera vid rumstemperatur tills CleanNA Particles CCF är helt rensad från lösningen.

⚠ Obs: Se till att inkubera tills alla partiklar har rensats från lösningen, förlust av partiklar kan leda till lägre utbyte.

14. Aspirera och kasta den klara supernatanten.

⚠ Obs: Stör eller pipettera inte CleanNA Particles CCF. Det kan leda till lägre utbyte.

15. Överför den återstående blandningen från steg 11 till 1,5 ml mikrocentrifugröret som användes i de föregående stegen.

16. Placera röret på en magnetisk separationsenhet för att magnetisera CleanNA Particles CCF.

17. Inkubera vid rumstemperatur tills CleanNA Particles CCF är helt rensad från lösningen.

⚠ Obs: Se till att inkubera tills alla partiklar har rensats från lösningen, förlust av partiklar kan leda till lägre utbyte.

18. Aspirera och kasta den klara supernatanten.

⚠ Obs: Stör eller pipettera inte CleanNA Particles CCF. Det kan leda till lägre utbyte.

19. Ta bort röret som innehåller CleanNA Particles CCF från den magnetiska separationsenheten.

20. Tillsätt 500 µl CCF Wash 1.

21. Slamma upp CleanNA Particles CCF genom vortexing i 2 minuter eller genom att pipettera upp och ned 20 gånger.

⚠ Obs: För att uppnå god renhet är det ytterst viktigt att CleanNA Particles CCF är helt i uppslamad.

22. Placera röret på den magnetiska separationsenheten för att magnetisera CleanNA Particles CCF.

23. Inkubera vid rumstemperatur tills CleanNA Particles CCF är helt rensad från lösningen.

⚠ Obs: Se till att inkubera tills alla partiklar har rensats från lösningen, förlust av partiklar kan leda till lägre utbyte.

24. Aspirera och kasta den klara supernatanten.

⚠ Obs: Stör eller pipettera inte CleanNA Particles CCF. Det kan leda till lägre utbyte.

25. Upprepa steg 19-24 för ett andra "CCF Wash 1" tvättsteg.

26. Ta bort röret som innehåller CleanNA Particles CCF från den magnetiska separationsenheten.

27. Tillsätt 500 µl CCF Wash 2.

⚠ Obs: CCF Wash 2 måste spädas med absolut etanol innan användning. Se sidan 13 för instruktioner.

28. Slamma upp CleanNA Particles CCF genom vortexing i 2 minuter eller genom att pipettera upp och ned 20 gånger.
29. Placera röret på den magnetiska separationsenheten för att magnetisera CleanNA Particles CCF.
30. Inkubera vid rumstemperatur tills CleanNA Particles CCF är helt rensad från lösningen.

⚠ Obs: Se till att inkubera tills alla partiklar har rensats från lösningen, förlust av partiklar kan leda till lägre utbyte.

31. Aspirera och kasta den klara supernatanten.

⚠ Obs: Stör eller pipettera inte CleanNA Particles CCF. Det kan leda till lägre utbyte.

32. Upprepa steg 26-31 för ett andra "CCF Wash 2" tvättsteg.
33. Ta bort röret från den magnetiska separationsenheten i cirka 30 sekunder.
34. Placera röret på den magnetiska separationsenheten för att magnetisera CleanNA Particles CCF.

⚠ Obs: Se till att inkubera tills alla partiklar har rensats från lösningen, förlust av partiklar kan leda till lägre utbyte.

35. Aspirera och kasta kvarvarande CCF Wash 2.

⚠ Obs: Stör eller pipettera inte CleanNA Particles CCF. Det kan leda till lägre utbyte.

36. Lämna det öppna röret på den magnetiska separationsenheten i 25 minuter för att torka CleanNA Particles CCF.
37. Ta bort röret som innehåller CleanNA Particles CCF från den magnetiska separationsenheten.
38. Tillsätt 30-60 µl elueringsbuffert. Återsuspendera CleanNA Particles CCF genom att vortexa eller pipettera upp och ner 20 gånger.

⚠ Obs: Se till att elueringsbufferten täcker CleanNA Particles CCF. För låga elueringsvolymmer kan orsaka lägre utbyte. För stora volymer orsakar lägre koncentration av DNA i eluatet.

39. Inkubera i rumstemperatur i 5 minuter, och fortsätt vortexa kontinuerligt
40. Placera röret på den magnetiska separationsenheten för att magnetisera CleanNA Particles CCF.
41. Inkubera vid rumstemperatur tills CleanNA Particles CCF är helt rensad från lösningen.

⚠ Obs: Inkubera tills alla partiklar är borta från lösningen. Partikelöverföring kan orsaka hämning under efterföljande PCR.

42. Överför den klara supernatanten som innehåller renat DNA till ett rent 1,5 mL mikrocentrifugrör (inte med i kitet).
43. Förvara den extraherade cellfria DNA:n vid -20°C.

Clean Cell Free DNA Kit-protokoll För 48-brunnars plattor

Innan du börjar:

- Ställ temperaturen på inkubatorn till 60°C.
- Se till att CCF Lysis är helt upplöst. Om inte, förvärm det till 37°C.
- Skaka eller vortexa CleanNA Particles CCF för att helt slamma upp partiklarna innan användning.
- Gör i ordning CCF Wash 2 enligt anvisningarna i avsnittet "Beredning av reagenser" på sidan 13.

Protokoll:

1. Tillsätt upp till 1 ml plasma-/serumprover till en 48 brunnars Deepwell-platta (medföljer ej).

⚠ Obs: Överskrid inte den maximala provvolymen, detta kommer att minska effektiviteten i extraktionsproceduren.

2. Om provvolymen är mindre än 1 ml, höj provvolymen till 1 ml med elueringsbuffert (medföljer detta kit).
3. Tillsätt 15 µl Proteinase K Solution.
4. Tillsätt 67 µl CCF Lysis och förslut plattan.
5. Vortexa med maximal hastighet eller pipettera upp och ner för att blanda ordentligt.
6. Inkubera vid 60°C i 20 minuter. Blanda genom att invertera eller skaka var 10:e minut.
7. Inkubera i rumstemperatur i 10 minuter.

⚠ Obs: Denna inkubationssteg är avgörande för att provtemperaturen ska sjunka och uppnå den mest effektiva DNA-bindningen till CleanNA Particles CCF.


8. Tillsätt 1 ml CCF Binding. Vortexa med maximal hastighet i 30 sekunder eller pipettera upp och ned för att blanda ordentligt.
9. Tillsätt 10 µl CleanNA Particles CCF. Invertera provet 10 gånger eller pipettera upp och ner för att blanda.

⚠ Obs: Skaka eller vortexa CleanNA Particles CCF för att helt slamma upp partiklarna innan användning.


10. Inkubera i 10 minuter i rumstemperatur och blanda kontinuerlig. Proverna måste blandas under hela de 10 minuters inkubationen genom skakning eller gungning.

⚠ Obs: Vortexa inte vid höga hastigheter eftersom detta kommer att orsaka skumbildning, vilket resulterar i ett minskat utbyte. Blandningshastigheten bör ställas in så att CleanNA Particles CCF kontinuerligt hålls suspenderade i lösningen.


11. Placera 48 brunnars Deepwell-plattan på den magnetiska plattan med 48 brunnar för att magnetisera CleanNA Particles CCF. Partiklarna från varje brunn kommer att samlas upp av magneterna på botten.
12. Inkubera vid rumstemperatur tills CleanNA Particles CCF är helt rensad från lösningen.

 **Obs:** Se till att inkubera tills alla partiklar har rensats från lösningen, förlust av partiklar kan leda till lägre utbyte.


13. Aspirera och kasta den klara supernatanten.

 **Obs:** Stör eller pipettera inte CleanNA Particles CCF. Det kan leda till lägre utbyte.


14. Ta bort 48-brunnars plattan som innehåller CleanNA Particles CCF från den magnetiska separationsenheten.
15. Tillsätt 500 µl CCF Wash 1.
16. Slamma upp CleanNA Particles CCF genom vortexing i 2 minuter eller genom att pipettera upp och ned 20 gånger.

 **Obs:** För att uppnå god renhet är det ytterst viktigt att CleanNA Particles CCF är helt i uppslammad.


17. Överför de återsuspenderade CleanNA Particles CCF till en ny 48 brunnars Deepwell platta (medföljer ej).

 **Obs: Fortsätt att arbeta i 48-brunnars format för den återstående proceduren.**


18. Placera 48 brunnars Deepwell-plattan på den magnetiska plattan med 48 brunnar för att magnetisera CleanNA Particles CCF.
19. Inkubera vid rumstemperatur tills CleanNA Particles CCF är helt rensad från lösningen.

 **Obs:** Se till att inkubera tills alla partiklar har rensats från lösningen, förlust av partiklar kan leda till lägre utbyte.


20. Aspirera och kasta den klara supernatanten.

 **Obs:** Stör eller pipettera inte CleanNA Particles CCF. Det kan leda till lägre utbyte.

21. Ta bort 48-brunnars plattan som innehåller CleanNA Particles CCF från den magnetiska separationsenheten.
22. Tillsätt 500 µl CCF Wash 1.
23. Slamma upp CleanNA Particles CCF genom vortexing i 2 minuter eller genom att pipettera upp och ned 20 gånger.

 **Obs:** För att uppnå god renhet är det ytterst viktigt att CleanNA Particles CCF är helt i uppslammad.

24. Placera 48 brunnars Deepwell-plattan på den magnetiska plattan med 48 brunnar för att magnetisera CleanNA Particles CCF.
25. Inkubera vid rumstemperatur tills CleanNA Particles CCF är helt rensad från lösningen.

 **Obs:** Se till att inkubera tills alla partiklar har rensats från lösningen, förlust av partiklar kan leda till lägre utbyte.

26. Aspirera och kasta den klara supernatanten.

⚠ Obs: Stör eller pipettera inte CleanNA Particles CCF. Det kan leda till lägre utbyte.

27. Ta bort 48-brunnars plattan som innehåller CleanNA Particles CCF från den magnetiska separationsenheten.

28. Tillsätt 500 µl CCF Wash 2.

⚠ Obs: CCF Wash 2 måste spädas med absolut etanol innan användning. Se sidan 13 för instruktioner.

29. Slammas upp CleanNA Particles CCF genom vortexing i 2 minuter eller genom att pipettera upp och ned 20 gånger.

30. Placera 48 brunnars Deepwell-plattan på den magnetiska plattan med 48 brunnar för att magnetisera CleanNA Particles CCF.

31. Inkubera vid rumstemperatur tills CleanNA Particles CCF är helt rensad från lösningen.

⚠ Obs: Se till att inkubera tills alla partiklar har rensats från lösningen, förlust av partiklar kan leda till lägre utbyte.

32. Aspirera och kasta den klara supernatanten.

⚠ Obs: Stör eller pipettera inte CleanNA Particles CCF. Det kan leda till lägre utbyte.

33. Upprepa steg 28-32 för ett andra "CCF Wash 2" tvättsteg.

34. Ta bort 48-brunnars plattan som innehåller CleanNA Particles CCF från den magnetiska separationsenheten.

35. Placera 48 brunnars Deepwell-plattan på den magnetiska plattan med 48 brunnar för att magnetisera CleanNA Particles CCF.

⚠ Obs: Se till att inkubera tills alla partiklar har rensats från lösningen, förlust av partiklar kan leda till lägre utbyte.

36. Aspirera och kasta kvarvarande CCF Wash 2.

⚠ Obs: Stör eller pipettera inte CleanNA Particles CCF. Det kan leda till lägre utbyte.

37. Lämna röret på den magnetiska separationsenheten i 25 minuter för att torka CleanNA Particles CCF.

38. Ta bort 48-brunnars plattan som innehåller CleanNA Particles CCF från den magnetiska separationsenheten.


39. Tillsätt 30-60 µl elueringsbuffert. Återsuspendera CleanNA Particles CCF genom att vortexa eller pipettera upp och ner 20 gånger.

⚠ Obs: Se till att elueringsbufferten täcker CleanNA Particles CCF. För låga elueringsvolymmer kan orsaka lägre utbyte. För stora volymer orsakar lägre koncentration av DNA i eluatet.

40. Inkubera i rumstemperatur i 5 minuter, under kontinuerlig blandning genom pipettering, skakning eller vortexning.

41. Placera 48 brunnars Deepwell-plattan på den magnetiska plattan med 48 brunnar för att magnetisera CleanNA Particles CCF.

42. Inkubera vid rumstemperatur tills CleanNA Particles CCF är helt rensad från lösningen.

 **Obs:** Inkubera tills alla partiklar är borta från lösningen. Partikelöverföring kan orsaka hämning under efterföljande PCR.

43. Överför den rensade supernatanten som innehåller renat DNA till en ren 96-brunnars platta eller till rena individuella rör (medföljer ej).

44. Förvara den extraherade cellfria DNA:n vid -20°C.

Felsökningsguide









Använd den här guiden för att felsöka eventuella problem som kan uppstå. Kontakta din lokala distributör för ytterligare hjälp.

Felsökning och problemlösning

Problem	Orsak	Förslag
Lågt DNA-utbyte	Ofullständig resuspension av CleanNA Particles CCF.	Återsuspendera CleanNA Particles CCF genom att vortexa kraftigt före användning.
	Ineffektiv bindning av DNA till CleanNA Particles CCF.	Se till provet får svalna i rumstemperatur i 10 minuter innan du lägger till CCF-bindning.
		Se till att blanda varje prov kontinuerligt under bindingsinkubationen.
	Förlust av CleanNA Particles CCF under proceduren.	Undvik att störa CleanNA Particles CCF under aspiration.
	DNA förblir bundet till CleanNA Particles CCF.	Späd CCF Wash 2 genom att tillsätta lämplig volym etanol före användning (se sidan 13 för instruktioner).
		Se till att elueringsbufferten täcker alla CleanNA Particles CCF.
Etanolrest.	Torka CleanNA Particles CCF i rumstemperatur i 25 minuter före eluering.	
CleanNA particles CC klarnar inte helt från lösningen	För kort magnetiseringstid.	Öka tiden för DNA-fästning på den magnetiska separationsenheten.
Rengöring av högmolekylärt DNA	Kräver två CCF Wash 1-steg.	Utför två CCF Wash 1-steg enligt instruktionerna i bruksanvisningen. Öka volymen av tvättbuffert vid behov.
Problem i nedströmsapplikationer	Rester av salter.	CCF Wash 2 måste vara rumstempererad.

Ovanliga data från bioanalysatorn	Bioanalysatorn visar flera skarpa toppar under analys.	Se till att ta bort alla spår av den renade supernatanten efter varje tvättsteg.
		Se till att inkubera röret/plattan i 25 minuter för att torka CleanNA Particles CCF.
	Bioanalysatorns baslinjens stiger uppåt mot slutet.	Kontrollera bioanalysatorchipet för eventuella luftbubblor. Ladda proverna på ett nyligen beredd chip.
	Bioanalysatorn visar hög klump i början av kurvan.	Se till att det renade provet inte innehåller spår av CleanNA Particles CCF.

Symboler

	In-vitro diagnostik
	CE-märkning. Denna produkt uppfyller kraven för CE-IVD-enhet enligt EU-förordningen för medicinska enheter för in vitro-diagnostik (2017/746)
	Beställningsnummer
	Tillverkare
	Varning
	Temperaturgräns
	Utgångsdatum
	Serienummer

Beställningsinformation

Kontakta din lokala distributör för att göra en beställning.

Produkt	Artikelnummer
Clean Cell Free DNA Kit (384 prover)	CCF-D0384

Revisionshistorik

Version av manualen	Datum för revision	Uppdaterad kapitel	Förklaring av uppdateringen
1	2023/OCT/02	N/A	Ursprunglig version
2	2024/FEB/02	Första sidan och schematisk översikt.	Uppdatering av länken till webbplatsen och schematisk översikt.

Anmärkningar

Anmärkningar

Anmärkningar

Kontakt

Coenecoop 75 | 2741 PH Waddinxveen | Nederländerna

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

www.cleanna.com

