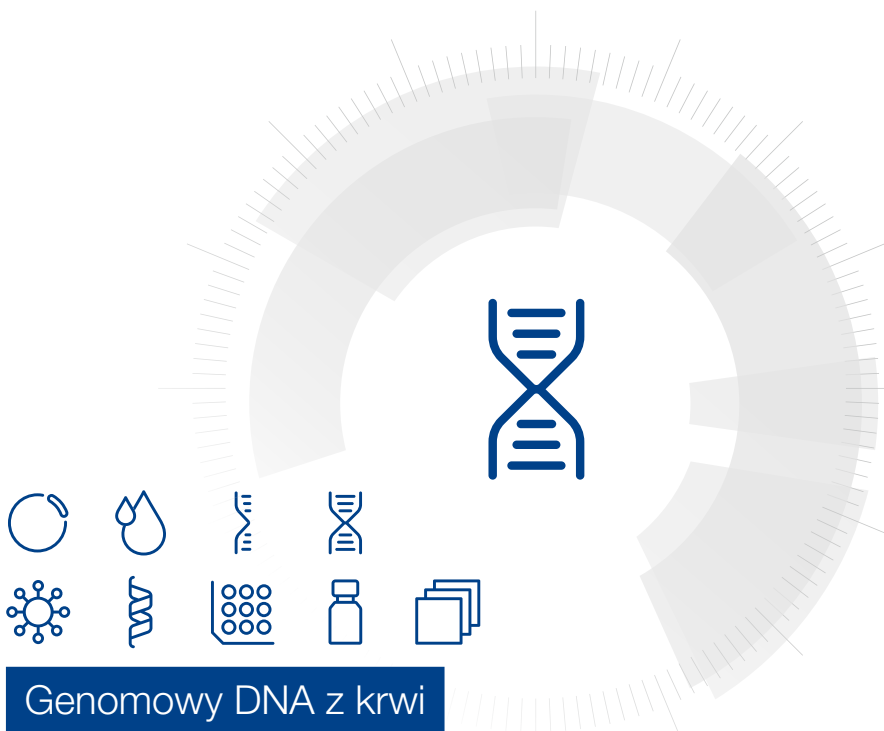


MACHEREY-NAGEL

# Instrukcji obsługi



## Genomowy DNA z krwi

■ NucleoSpin® Dx Blood

CE



Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*



740899.50,  
740899.250



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG  
52355 Düren Niemcy, Tel.: +49 24 21 969-0



50/250  
preparatów



Kwiecień 2022 r. / Wer. 05

## Contact MN

### Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG  
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany  
Tel.: +49 24 21 969-0  
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)  
E-mail: [info@mn-net.com](mailto:info@mn-net.com)

### Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-270  
E-mail: [tech-bio@mn-net.com](mailto:tech-bio@mn-net.com)

### USA

MACHEREY-NAGEL Inc.  
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA  
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)  
E-mail: [sales-us@mn-net.com](mailto:sales-us@mn-net.com)

### France

MACHEREY-NAGEL SAS  
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France  
Tel.: +33 388 68 22 68  
E-mail: [sales-fr@mn-net.com](mailto:sales-fr@mn-net.com)

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €  
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

### Switzerland



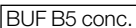




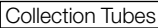
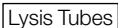
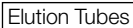

MACHEREY-NAGEL AG  
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland  
Tel.: +41 62 388 55 00  
E-mail: [sales-ch@mn-net.com](mailto:sales-ch@mn-net.com)

## Spis treści

1 Elementy	4
1.1 Zawartość zestawu	4
1.2 Odczynniki, materiały eksploatacyjne i sprzęt dostarczane przez użytkownika	4
1.3 Informacje o tej instrukcji obsługi	5
2 Opis produktu	6
2.1 Przeznaczenie	6
2.2 Ograniczenia dotyczące użytkowania produktu	6
2.3 Kontrola jakości	6
2.4 Wprowadzenie i specyfikacja zestawu	7
2.5 Działanie analityczne	8
2.6 Procedury elucji	9
3 Warunki przechowywania i przygotowanie roztworów roboczych	10
4 Instrukcje dotyczące bezpieczeństwa	11
4.1 Usuwanie	11
5 Oczyszczanie genomowego DNA za pomocą NucleoSpin® Dx Blood	12
5.1 Skrócony protokół	13
5.2 Procedura	14
6 Załącznik	16
6.1 Rozwiązywanie problemów	16
6.2 Konieczność powiadomienia	18
6.3 Piśmiennictwo ogólne	18
6.4 Zamawianie	18
6.5 Wyjaśnienie symboli	18
6.6 Ograniczenie stosowania produktu / gwarancja	19

# 1 Elementy

## 1.1 Zawartość zestawu

NucleoSpin® Dx Blood			
REF		50 preparatów 740899.50	250 preparatów 740899.250
Buffer B3		15 mL	60 mL
Wash Buffer BW		30 mL	150 mL
Wash Buffer B5 (Concentrate)*		12 mL	50 mL
Elution Buffer BE**		13 mL	60 mL
Proteinase Buffer PB		1.8 mL	8 mL
Proteinase K (lyophilized)*		30 mg	2 × 75 mg
<b>NucleoSpin® Dx Blood Columns</b> (red rings -plus Collection Tubes)		50	250
Collection Tubes (2 mL)		3 × 50	3 × 250
Lysis Tubes (1.5 mL)		50	5 × 50
Elution Tubes (1.5 mL)		50	5 × 50
User manual		1	1

## 1.2 Odczynniki, materiały eksploatacyjne i sprzęt dostarczane przez użytkownika

### Odczynniki

- 96–100 % etanol (w celu dostosowania warunków wiązania DNA i przygotowania Wash Buffer B5)

### Materiały eksploatacyjne

- Jednorazowe końcówki do pipet (zalecane są końcówki do pipet z barierą aerozolonową, aby uniknąć przeniesienia zakażenia)

\* For preparation of working solutions and storage conditions see section 3.

\*\* Composition of Elution Buffer BE: 5 mM Tris/HCl, pH 8.5

#### Wyposażenie

- Pipetory ręczne
- Wirówka do probówek mikrowirówkowych
- Worteks
- Termiczny blok grzejny lub łaźnia wodna (do lizy próbek w 70 °C)
- Sprzęt ochrony osobistej (np. fartuch laboratoryjny, rękawiczki, okulary)

### 1.3 Informacje o tej instrukcji obsługi

Zdecydowanie zaleca się przeczytanie szczegółowej części dotyczącej protokołu, zamieszczonej w niniejszej instrukcji obsługi. Skrócony protokół jest przeznaczony do stosowania wyłącznie jako narzędzie uzupełniające do szybkiego odniesienia się podczas wykonywania procedury oczyszczania.

Instrukcje obsługi firmy MACHEREY-NAGEL są dostępne w Internecie pod adresem [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com).

Należy skontaktować z serwisem technicznym w sprawie informacji o zmianach aktualnej instrukcji obsługi w porównaniu z poprzednimi wersjami.

#### Dane do kontaktu

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG  
Valenciener Str. 11  
52355 Duren, Niemcy  
Tel.: +49 24 21 969-0  
Połączenie bezpłatne: 0800 26 16 000 (tylko Niemcy)  
E-mail: [info@mn-net.com](mailto:info@mn-net.com)

#### Pomoc techniczna dot. bioanaliz

Tel.: +49 24 21 969-270  
E-mail: [tech-bio@mn-net.com](mailto:tech-bio@mn-net.com)

Benutzerhandbücher in weiteren Sprachen sind im Download-Bereich auf der Produktseite verfügbar.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Telechargements de la page du produit.

Los manuales de usuario en otros idiomas estan disponibles en la seccion de descargas de la pagina del producto.



## 2 Opis produktu

### 2.1 Przeznaczenie

**NucleoSpin® Dx Blood** to zestaw do izolacji genomowego DNA z próbek świeżej i zamrożonej ludzkiej krwi pełnej, stabilizowanej EDTA, cytrynianem lub heparyną, uzyskiwanych za pomocą popularnych systemów pobierania krwi do późniejszej analizy *in vitro*. Produkt dostarcza oczyszczonego genomowego DNA do wykorzystania w dalszej analizie, takiej jak PCR, qPCR lub sekwencjonowanie w celu uzyskania informacji o DNA genomowym w próbce. Produkt jest używany przez profesjonalnych użytkowników w laboratoriach diagnostycznych.

Zestaw **NucleoSpin® Dx Blood** nie nadaje się do samodzielnego testowania ani badań wykonywanych przy pacjencie. Użytkownik powinien posiadać doświadczenie w zakresie technik biologii molekularnej, w tym doświadczenie z próbkami krwi pełnej i innymi potencjalnie zakaźnymi próbkami zawierającymi materiały pochodzące od człowieka.

Zaleca się stosowanie odpowiednich kontroli, takich jak kontrole wewnętrzne, kontrole ekstrakcji oraz kontrole dodatnie/ujemne.

### 2.2 Ograniczenia dotyczące użytkowania produktu

Zestaw **NucleoSpin® Dx Blood** nie jest przeznaczony do stosowania z próbkami tkanek lub kału, bezkomórkowych płynów ustrojowych, takich jak osocze, surowica, moczu lub płyn mózgowo-rdzeniowy. Działanie zestawu nie zostało ocenione z użyciem kożuszków leukocytnego, hodowanych lub izolowanych komórek, wymazów, wysuszonych plamek krwi i wirusowego DNA. Zestaw nie jest również przeznaczony do izolacji i oczyszczania kwasów nukleinowych bakterii, grzybów lub pasożytów.

### 2.3 Kontrola jakości

Zgodnie z systemem zarządzania jakością firmy MACHEREY-NAGEL, każda partia zestawu **NucleoSpin® Dx Blood** jest testowana pod względem wcześniej określonych specyfikacji, aby zapewnić stałą jakość produktu.

## 2.4 Wprowadzenie i specyfikacja zestawu

**NucleoSpin® Dx Blood** jest oparty na sprawdzonej technologii membrany krzemionkowej NucleoSpin® i dostarcza łatwego sposobu izolacji genomowego DNA z próbek krwi pełnej o objętości 200 µL. Oczyszczony DNA jest gotowy do użycia do dalszej amplifikacji PCR.

Procedura **NucleoSpin® Dx Blood** opiera się na serii prostych czynności:

Najpierw próbki krwi poddaje się lizie w obecności soli chaotropowych i Proteinase K. Genomowy DNA w lizacie jest następnie wiązany na kolumnie **NucleoSpin® Dx Blood**. Następnie membrana ze związanymi kwasami nukleinowymi jest przemywana i finalnie eluowany jest genomowy DNA o wysokiej czystości.

### Próbki

Zestaw może być używany z próbką świeżej lub mrożonej ludzkiej krwi pełnej o objętości 200 µL, poddanej działaniu EDTA, cytrynianu lub heparyny, uzyskaną za pomocą popularnych systemów pobierania krwi.

Zazwyczaj 200 µL ludzkiej krwi pełnej pozwala uzyskać 3–5 µg genomowego DNA, w zależności od liczby białych krwinek w próbce.

Poniżej przedstawiono wybór odpowiednich urządzeń do pobierania krwi:

**Tabela 1: Wybór odpowiednich systemów pobierania krwi**

System pobierania krwi	Producent
S-Monovette® Li-Heparin	Sarstedt
S-Monovette® EDTA	Sarstedt
S-Monovette® Citrat	Sarstedt
VACUETTE® EDTA	GREINER BIO-ONE
BD VACUTAINER® K2E	BD
K3 EDTA	DELTA LAB
K2 EDTA	APTACA

### Ograniczenia dotyczące próbki

Krioprecypitaty powstające podczas rozmrażania zamrożonych próbek mogą zablokować kolumnę **NucleoSpin® Dx Blood**. Jeśli takie precypitaty są widoczne, należy unikać ich odsysania podczas wprowadzania lisztu do kolumny wiążącej.

Oczywiście próbki zhemolizowane i o dużej zawartości lipidów mogą wpływać na uzysk i czystość DNA.

Tabela 2: Specyfikacja zestawu w skrócie

Parametr	NucleoSpin® Dx Blood
Materiał próbki	Świeża lub mrożona ludzka krew pełna poddana działaniu EDTA, cytrynianu lub heparyny, uzyskana za pomocą popularnych systemów pobierania krwi
Objętość próbki	200 µL
Typowy uzysk DNA	3–5 µg w zależności od liczby białych krwinek
Typowa jakość DNA	Stosunek $A_{260}/A_{280}$ 1,7–1,9 Stosunek $A_{260}/A_{230}$ 1,8–2,3
Objętość elucji	50–200 µL
Typowe stężenie DNA	40–60 ng/µL
Przetwarzanie	Wirowanie

## 2.5 Działanie analityczne

Powtarzalność w ramach serii obliczono na podstawie równoległej izolacji 12 identycznych porcji próbek krwi. Średni uzysk DNA wynosił  $5,2 \mu\text{g} \pm 0,3$ , co odpowiada CV 6%. Powtarzalność między seriami testowano w dwóch niezależnych seriach. W każdej serii DNA izolowano z jednej próbki krwi po 6 powtórzeń każda. Różnica między średnimi uzyskami z dwóch serii wynosiła  $0,2 \mu\text{g}$  DNA, co odpowiada 6%. W celu uzyskania powtarzalności między partiami porównywano obok siebie trzy partie zestawu NucleoSpin® Dx Blood. W przypadku każdej partii gDNA izolowano w 6 powtórzeniach. Wszystkie powtórzenia pobrano z jednej próbki krwi. Średni uzysk DNA na sześć preparatów wynosił  $5,2, 4,8$  i  $5,0 \mu\text{g}$  z odchyleniami standardowymi wynoszącymi odpowiednio  $0,4, 0,5$  i  $0,5 \mu\text{g}$ . CV średnich uzysków z trzech partii wynosił 4%.

W celu oceny odtwarzalności DNA z próbek krwi pełnej był izolowany równoległe przez dwóch operatorów. Średni uzysk ( $n = 6$ ) wynosił odpowiednio  $2,9 \pm 0,3 \mu\text{g}$  oraz  $3,0 \pm 0,2 \mu\text{g}$ , co odpowiada CV 9% i 7% na sześć preparatów. Różnica średniego uzysku obu operatorów wyniosła  $0,1 \mu\text{g}$ .

Przykłady zastosowania NucleoSpin® Dx Blood w diagnostyce *in vitro* przedstawiono w następujących publikacjach:

Hadzsiev, K. *et al.* (2019) Rubinstein-Taybi syndrome 2 with cerebellar abnormality and neural tube defect. *Clin Dysmorphol.*, 23(3), 137–141.

Komlósi, K. *et al.* (2015) Phenotypic variability in a Hungarian patient with the 4q21 microdeletion syndrome. *Mol Cytogenet.*, 8, 16.

Czakó, M. *et al.* (2019) Possible Phenotypic Consequences of Structural Differences in Idic(15) in a Small Cohort of Patients. *Int J Mol Sci.*, 20(19), 4935.

Szabo, A. *et al.* (2015) Partial tetrasomy of the proximal long arm of chromosome 15 in two patients: the significance of the gene dosage in terms of phenotype. *Mol Cytogenet.*, 8, 41.



## 2.6 Procedury elucji

DNA jest eluowany z **kolumn NucleoSpin® Dx Blood** za pomocą 50 do 200  $\mu\text{L}$  buforu elucyjnego BE. Całkowity uzysk DNA wzrasta wraz ze wzrostem objętości elucji, podczas gdy stężenie DNA maleje (patrz Rysunek 1).

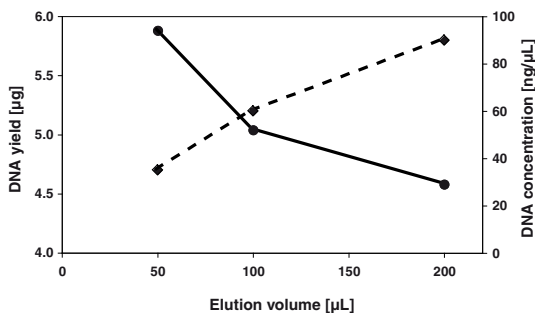
Zazwyczaj maksymalnie 10  $\mu\text{L}$  eluatu można użyć jako matrycę w 50  $\mu\text{L}$  mieszaniny PCR bez wpływu na działanie PCR. Zaleca się przechowywanie eluowanego DNA w temperaturze  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Kilka cykli zamrażania i rozmrażania nie będzie powodowało zakłóceń w przypadku większości dalszych zastosowań.

### Przechowywanie kwasów nukleinowych

Zalecenie:

Przechowywanie krótkoterminowe (do 24 godzin):  $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$

Długoterwałe przechowywanie (ponad 24 godziny):  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$



### Rysunek 1

Wpływ objętości elucji na całkowity uzysk DNA (linia przerywana) i stężenie (linia ciągła). Elucję przeprowadzono z użyciem 50, 100 i 200  $\mu\text{L}$ .

### 3 Warunki przechowywania i przygotowanie roztworów roboczych

#### Uwaga:

- Po otrzymaniu zestawu należy sprawdzić wszystkie elementy pod kątem uszkodzeń. Jeśli zawartość zestawu, np. butelki z buforami lub opakowania blistrowe, jest uszkodzona, należy skontaktować się z pomocą techniczną i obsługą klienta firmy MACHEREY-NAGEL lub z lokalnym dystrybutorem.
- Nie używać uszkodzonych elementów zestawu.
- Po dostarczeniu zestaw **NucleoSpin® Dx Blood** powinien być przechowywany w temperaturze 18–25 °C. NIE jest wymagane otwieranie zestawu w momencie dostawy i wyjmowanie poszczególnych elementów w celu ich oddzielnego przechowywania.
- **Kolumny NucleoSpin® Dx Blood** mogą być używane do terminu ważności podanego na opakowaniu zestawu.

Przed rozpoczęciem protokołu **NucleoSpin® Dx Blood** należy przygotować następujące elementy:

- **Wash Buffer B5:** Dodać wskazaną objętość etanolu (96–100 %, patrz tabela poniżej lub na butelce) do **Wash Buffer B5 Concentrate**. Oznaczyć etykietę butelki, aby wskazać, że dodano etanol. Przechowywać Wash Buffer B5 w temperaturze 18–25 °C do terminu ważności.
- Liofilizowana **Proteinase K** może być przechowywana w temperaturze 18–25 °C do terminu ważności bez niekorzystnego wpływu na jej działanie. Przed pierwszym użyciem zestawu należy dodać wskazaną objętość **Proteinase Buffer PB** w celu rozpuszczenia liofilizowanej Proteinase K. Rekonstruowaną Proteinase K należy przechowywać w temperaturze –20 °C do 6 miesięcy, ale tylko do terminu ważności.
- W trakcie przechowywania, zwłaszcza w niskich temperaturach, w Buffer B3 i Buffer BW może utworzyć się biały precypitat. Takie precypitaty można łatwo rozpuścić, inkubując butelkę w temperaturze 70 °C przez 5 min przed użyciem.

NucleoSpin® Dx Blood		
REF	50 preparatów 740899.50	250 preparatów 740899.250
Wash Buffer B5 (Concentrate)	12 mL Dodać 48 mL etanolu	50 mL Dodać 200 mL etanolu
Proteinase K	30 mg Dodać 1,35 mL Proteinase Buffer	2 × 75 mg Dodać 3,35 mL Proteinase Buffer do każdej fiołki

## 4 Instrukcje dotyczące bezpieczeństwa

Podczas pracy z zestawem **NucleoSpin® Dx Blood** należy nosić odpowiednią odzież ochronną (np. fartuch laboratoryjny, jednorazowe rękawiczki i okulary ochronne). Aby uzyskać więcej informacji, należy zapoznać się z odpowiednimi kartami charakterystyki materiałów niebezpiecznych (MSDS, dostępnymi online pod adresem <http://www.mn-net.com/msds>).



Ostrzeżenie: Chlorowodorek guanidyny w Buffer B3 i Buffer BW w połączeniu z wybielaczem może tworzyć wysoce reaktywne związki! Dlatego nie należy dodawać wybielaczy ani kwaśnych roztworów bezpośrednio do odpadów pozostałych po przygotowaniu próbek.

Odpady powstałe po użyciu zestawu **NucleoSpin® Dx Blood** nie zostały przetestowane pod kątem pozostałości materiału zakaźnego. Skażenie płynnych odpadów pozostałości materiału zakaźnego jest wysoce nieprawdopodobne ze względu na silnie denaturujący bufor do lizy i użycie Proteinase K, ale nie można tego całkowicie wykluczyć. Dlatego odpady płynne należy traktować jako zakaźne i należy z nimi postępować oraz usuwać je zgodnie z lokalnymi przepisami bezpieczeństwa.

### 4.1 Usuwanie

Materiały niebezpieczne, zakaźne lub skażone biologicznie należy usuwać w bezpieczny i akceptowalny sposób oraz zgodnie ze wszystkimi lokalnymi wymogami i przepisami.

## 5 Oczyszczanie genomowego DNA za pomocą NucleoSpin® Dx Blood

Poniższa procedura dostarcza instrukcji dotyczących przygotowania pojedynczej próbki krwi. Można jednak przygotowywać kilka próbek jednocześnie; liczba zależy od pojemności użytej mikrowirówki.










### Przed przystąpieniem do przygotowania:



- Sprawdzić, czy Buffer B5 i Proteinase K zostały przygotowane zgodnie z opisem w punkcie 3.
- Sprawdzić, czy dostępny jest 96 – 100 % etanol (zdenaturowany lub niedenaturowany) w celu dostosowania warunków wiązania DNA.
- Ustawić ciepłąkę (np. blok grzewczy) lub łaźnię wodną na 70 °C.
- Doprowadzić próbki krwi do temperatury pokojowej. Upewnić się, że próbki są dobrze wymieszane.
- Jeśli w Lysis Buffer B3 lub Buffer BW utworzył się precypitat, należy inkubować bufor w temperaturze 70 °C, aż precypitat się rozpuści.
- Zasadniczo nie należy mieszać odczynników i kolumn z różnych zestawów i partii.
- Doprowadzić Elution Buffer BE do temperatury pokojowej.
- Nie dodawać roztworu Proteinase K bezpośrednio do Lysis Buffer B3. Proteinase K musi zostać wymieszana z próbką krwi przed dodaniem Buffer B3.
- Wszystkie etapy wirowania należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej.

## 5.1 Skrócony protokół

Dodatkowy przegląd protokołu:

Przed rozpoczęciem procedury należy uważnie przeczytać szczegółowy protokół (punkt 5.2).

<b>Liza próbki krwi</b>	<b>1</b>	25 µL Proteinase K	
	<b>2</b>	200 µL krwi	
	<b>3</b>	200 µL B3, wymieszać	
	<b>4</b>	RT, 5 min	
	<b>5</b>	70 °C, 10 min, wymieszać	
	<b>6</b>	2000 × g, 1 s	
<b>Dostosowanie warunków wiązania DNA</b>	<b>7</b>	210 µL etanolu, wymieszać	
	<b>8</b>	2000 × g, 1 s	
<b>Wiązanie DNA</b>	<b>9</b>	Wprowadzić lizat	
	<b>10</b>	11 000 × g, 1 min	
	<b>11</b>	Przenieść <b>kolumnę NucleoSpin® Dx Blood</b> do nowej próbki do pobierania	
<b>Płukanie membrany krzemionkowej</b>	<b>12</b>	500 µL BW	
	<b>13</b>	11 000 × g, 1 min	
	<b>14</b>	Przenieść <b>kolumnę NucleoSpin® Dx Blood</b> do nowej próbki do pobierania	
	<b>15</b>	600 µL B5	
	<b>16</b>	11 000 × g, 1 min	
<b>Suszenie membrany krzemionkowej</b>	<b>17</b>	Przenieść <b>kolumnę NucleoSpin® Dx Blood</b> do nowej próbki do pobierania	
	<b>18</b>	11 000 × g, 1 min	

<b>Elucja DNA</b>	<b>19</b>	Przenieść <b>kolumnę NucleoSpin® Dx Blood</b> do nowej probówki do elucji	
	<b>20</b>	50–200 µL BE	
	<b>21</b>	11 000 × g, 1 min	

## 5.2 Procedura

- 1 Odpipetować **25 µL roztworu Proteinase K** do probówki do lizy (1,5 mL, dołączona).
- 2 Dodać **200 µL próbki krwi** do probówki do lizy. Wymieszać.
- 3 Dodać **200 µL Buffer B3** do probówki do lizy, zamknąć zatyczkę i mieszać energicznie, worteksując pulsacyjnie przez 10 s.  
*Nie mieszać wstępnie Buffer B3 i Proteinase K!*
- 4 Inkubować w **temperaturze pokojowej** przez **5 min** (± 1 min).
- 5 Inkubować probówkę do lizy w temperaturze **70 °C** (± 2 °C) przez **10 min** (± 1 min). Po inkubacji mieszać energicznie, **worteksując** pulsacyjnie przez 5 s.
- 6 **Krótko odwirować** probówkę do lizy (około 1 s przy 2000 × g), aby usunąć krople z zatyczki (tylko krótkie wirowanie).
- 7 Dodać **210 µL etanolu** (96–100 %) do próbki. Zamknąć zatyczkę i mieszać, worteksując pulsacyjnie przez 5 s.  
*Upewnić się, że etanol i lizat są dobrze wymieszane.*
- 8 **Krótko odwirować** probówkę do lizy (około 1 s przy 2000 × g), aby usunąć krople z zatyczki (tylko krótkie wirowanie).
- 9 Ostrożnie **wprowadzić cały lizat** do **kolumny NucleoSpin® Dx Blood** umieszczonej w probówce do pobierania i zamknąć zatyczkę.
- 10 **Odwirować przez 1 min z prędkością 11 000 × g.**  
*Jeśli lizat nie zostanie w całości pobrany przez membranę, powtórzyć wirowanie z większą szybkością g (15 000–20 800 × g przez 1 min). Jeśli lizat nadal nie przejdzie w całości przez membranę, należy wyrzucić próbkę i powtórzyć izolację z nowym materiałem próbki.*
- 11 Umieścić **kolumnę NucleoSpin® Dx Blood** w nowej probówce do pobierania (2 mL, w zestawie) i wyrzucić probówkę do pobierania z przepływem z poprzedniego etapu.
- 12 Otworzyć **kolumnę NucleoSpin® Dx Blood** i dodać do niej 500 µL **Buffer BW**. Zamknąć zatyczkę.  
*Uwaga: Upewnić się, że pozostały lizat został wypłukany za pomocą Buffer BW.*
- 13 **Odwirować przez 1 min z prędkością 11 000 × g.**

**14** Umieścić **kolumnę NucleoSpin® Dx Blood** w nowej probówce do pobierania (2 mL, w zestawie) i wyrzucić probówkę do pobierania z przepływem z poprzedniego etapu.

---

**15** Otworzyć **kolumnę NucleoSpin® Dx Blood** i dodać do niej **600 µL Buffer B5**. Zamknąć zatyczkę.

Uwaga: Upewnić się, że bufor do płukania pozostały z poprzedniego etapu został wypłukany za pomocą Buffer B5.

---

**16** **Odwirować przez 1 min z prędkością 11 000 × g.**

---

**17** Umieścić kolumnę **NucleoSpin® Dx Blood** w nowej probówce do pobierania (2 mL, w zestawie) i wyrzucić probówkę do pobierania z przepływem z poprzedniego etapu.

---

**18** **Odwirować przez 1 min z prędkością 11 000 × g.**

*Podczas tego etapu usuwane są pozostałości etanolu.*

---

**19** Umieścić **kolumnę NucleoSpin® Dx Blood** w czystej probówce do elucji (1,5 mL, w zestawie) i wyrzucić probówkę do pobierania z poprzedniego etapu.

---

**20** Otworzyć **kolumnę NucleoSpin® Dx Blood** i dodać **50–200 µL Buffer BE** bezpośrednio na środek membrany.

---

**21** **Odwirować przez 1 min z prędkością 11 000 × g**, aby przeprowadzić elucję DNA z kolumny.

---

## 6 Załącznik

### 6.1 Rozwiązywanie problemów

Problem	Możliwa przyczyna i sugestie
Brak lub niski uzysk DNA	<p><i>Niskie stężenie białych krwinek w próbce</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Uzysk DNA zależy od liczby białych krwinek w próbce. Próbkę krwi zawierające niską liczbę białych krwinek pozwalają uzyskać małe ilości DNA.</li> </ul>
	<p><i>Niepełna liza próbki</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Niejednorodna próbka krwi lub zakrzepy krwi w próbce: Upewnić się, że próbki krwi są pobierane zgodnie z instrukcjami producenta próbowki do pobierania krwi. Upewnić się, że tylko krew, którą można łatwo przenieść przez pipetowanie, jest używana jako materiał próbki. W razie potrzeby zhomogenizować próbkę krwi przed użyciem.</li> <li>Próbka nie została dokładnie wymieszana z Proteinase K i buforem do lizy. Bezpośrednio po dodaniu Lysis Buffer B3 mieszaninę należy energicznie zworteksować.</li> <li>Trawienie za pomocą Proteinase K nie jest optymalne. Nigdy nie dodawać Proteinase K bezpośrednio do Lysis Buffer B3.</li> </ul>
	<p><i>Odczynniki nie zostały prawidłowo dodane</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Przygotować bufor i roztwór Proteinase K zgodnie z instrukcją (punkt 3). Dodać etanol do lizatu przed wprowadzeniem lizatu do kolumny.</li> </ul>
	<p><i>Niewłaściwe wirowanie</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Nie wydłużać czasu i nie zwiększać prędkości wirowania na etapach 6 i 8. Wykonać tylko krótkie wirowanie, aby usunąć krople z zatyczki.</li> </ul>
Zablokowana kolumna wiążąca DNA	<p><i>Nieoptymalna elucja DNA z kolumny</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Skuteczność elucji zależy od objętości buforu elucyjnego. Aby uzyskać najwyższą skuteczność elucji, należy użyć 200 µL buforu elucyjnego; aby uzyskać najwyższe stężenie DNA, należy użyć 50 µL buforu elucyjnego.</li> </ul>
	<p><i>Niejednorodna próbka krwi</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Krioprecypitat powstający podczas rozmrażania zamrożonych próbek może zablokować <b>kolumnę NucleoSpin® Dx Blood</b>. Jeśli takie precypitaty są widoczne, należy unikać ich odsysania podczas wprowadzania lizatu do kolumny wiążącej. Precypitaty mogą również tworzyć się w świeżych próbkach krwi. Upewnić się, że próbki są dobrze wymieszane. Jeśli kolumna ulegnie zablokowaniu podczas etapu wiązania DNA, należy powtórzyć wirowanie przy większej sile g (15 000–20 800 × g przez 1 min).</li> </ul>



<b>Problem</b>	<b>Możliwa przyczyna i sugestie</b>
Niska jakość DNA	<i>Odczynniki nie zostały prawidłowo dodane</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Przygotować bufony i roztwór Proteinase K zgodnie z instrukcją (punkt 3). Dodać etanol do lizatu i wymieszać przed dodaniem ich do kolumn.</li></ul>
	<i>Niepełna liza próbki</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Próbką nie została dokładnie wymieszana z roztworem Proteinase K i buforem do lizy. Bezpośrednio po dodaniu buforu do lizy mieszaninę należy energicznie zworteksować.</li><li>• Trawienie za pomocą Proteinase K nie jest optymalne. Nie dodawać Proteinase K bezpośrednio do Lysis Buffer B3.</li></ul>
	<i>Do przygotowania użyto starych lub zakrzepłych próbek krwi</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Upewnić się, że jako materiał próbki używana jest tylko krew, którą można łatwo przenieść przez pipetowanie. W razie potrzeby zhomogenizować próbkę krwi przed użyciem.</li></ul>
Nieoptymalne działanie genomowego DNA w reakcjach enzymatycznych	<i>Przeniesienie etanolu</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Przed elucją DNA należy usunąć cały etanolowy Buffer B5. Jeśli poziom napełnienia przepływem Wash Buffer B5 po drugim płukaniu z jakiegokolwiek powodu dotrze do wylotu kolumny, należy odrzucić przepływ, umieścić kolumnę z powrotem w próbówce do pobierania i ponownie odwirować.</li><li>• Eluaty DNA mogą zawierać śladowe ilości etanolu. Nie zaobserwowano jednak pogorszenia działania PCR z użyciem eluatu DNA do 20 % końcowej objętości PCR jako matrycy (np. przy użyciu 4 µL ze 100 µL eluatu jako matrycy w 20 µL PCR). Maksymalny procent objętości matrycy w PCR może się różnić w zależności od wiarygodności systemu PCR i musi zostać określony przez użytkownika.</li></ul>
	<i>Skażenie DNA substancjami hamującymi</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Jeśli DNA przygotowano ze starych lub zakrzepłych próbek krwi, należy się upewnić, że jako materiał próbki używana jest tylko krew, którą można łatwo przenieść przez pipetowanie. W razie potrzeby zhomogenizować próbkę krwi przed użyciem.</li></ul>

Kontakt:

MACHEREY-NAGEL Niemcy  
Tel.: +49 (0) 24 21 969 270  
e-mail: TECH-BIO@mn-net.com

## 6.2 Konieczność powiadomienia

Należy pamiętać, że każdy poważny incydent, który miał miejsce w związku z produktem, należy niezwłocznie zgłaszać producentowi i właściwemu organowi europejskiego państwa członkowskiego, w którym doszło do incydentu. Europejskie punkty do kontaktu ds. nadzoru: [https://ec.europa.eu/health/md\\_sector/contact\\_en](https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en)

## 6.3 Piśmiennictwo ogólne

Thiemann F. *et al.* (2006) Leitfaden Molekulare Diagnostik – Grundlagen, Gesetze, Tipps und Tricks, WILEY-VCH, ISBN 3-527-31471-7.

Orzińska A. *et al.* (2015) 14 Years of Polish Experience in Non-Invasive Prenatal Blood Group Diagnosis. *Transfus Med Hemother*, 42, 361 – 364.

Papadopolou A. *et al.* (2014) Calcium sensing receptor in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. *Placenta*, 35, 632e638.











Bleda S. *et al.* (2012) Vascular endothelial growth factor polymorphisms are involved in the late vascular complications in Type II diabetic patients. *Diabetes & Vascular Disease Research*, 9(1), 68 – 74.

## 6.4 Zamawianie

Produkt	REF	Opakowanie
NucleoSpin® Dx Blood	740899.50/.250	50/250
NucleoSpin® Dx Virus	740895.50	50
NucleoMag® Dx Pathogen	744215.4	384

Więcej szczegółowych informacji o produkcie można znaleźć na stronie [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com).

## 6.5 Wyjaśnienie symboli

 REF	Numer produktu		Dopuszczalny zakres temperatur przechowywania
 LOT	Identyfikator partii		Termin ważności
	Producent		Ostrzeżenie: Dalsze informacje w instrukcji obsługi
 IVD	Produkty do diagnostyki <i>in vitro</i>		Nie używać ponownie
	Należy przeczytać instrukcję obsługi		
	Wystarcza na < n> testów		

## 6.6 Ograniczenie stosowania produktu / gwarancja

Zestaw **NucleoSpin® Dx Blood** to ogólny system do izolacji i oczyszczania genomowego DNA z próbek ludzkiej krwi pełnej w celu dalszej diagnostyki *in vitro*.

Zestaw jest przeznaczony do dalszych zastosowań z użyciem enzymatycznej amplifikacji i detekcji DNA (np. PCR). Wszelkie wyniki diagnostyczne uzyskane przy użyciu DNA wyizolowanego za pomocą zestawu **NucleoSpin® Dx Blood** w połączeniu z testem diagnostycznym należy interpretować z uwzględnieniem dodatkowych wyników badań klinicznych lub laboratoryjnych. Zestaw **NucleoSpin® Dx Blood** nie dostarcza wyniku diagnostycznego. Użytkownik ponosi wyłączną odpowiedzialność za używanie i walidację zestawu w połączeniu z dalszym testem do diagnostyki *in vitro*. TYLKO produkty firmy MACHEREY-NAGEL oznaczone specjalnie jako IVD nadają się do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Instrukcje dotyczące bezpieczeństwa znajdują się w odpowiednim rozdziale instrukcji obsługi. Zestaw **NucleoSpin® Dx Blood** może być używany wyłącznie w odpowiednim środowisku testowym, tj. w odpowiednich warunkach laboratoryjnych.

Użytkownik ponosi odpowiedzialność za wszelkie szkody wynikające z zastosowania zestawu **NucleoSpin® Dx Blood** niezgodnie z przeznaczeniem określonym w instrukcji obsługi.

Ten produkt firmy MACHEREY-NAGEL jest dostarczany z dokumentacją określającą specyfikację i inne informacje techniczne. Firma MACHEREY-NAGEL gwarantuje spełnienie podanych specyfikacji. Jedynym zobowiązaniem firmy MACHEREY-NAGEL i jedynym środkiem zaradczym wobec klienta jest bezpłatna wymiana produktów w przypadku, gdy produkty nie będą działać zgodnie z gwarancją. Dodatkowo należy zapoznać się z ogólnymi warunkami handlowymi firmy MACHEREY-NAGEL, które są wydrukowane w cenniku. W razie chęci otrzymania dodatkowej kopii należy skontaktować z naszą firmą.

Firma MACHEREY-NAGEL nie ponosi odpowiedzialności za uszkodzenia lub wady powstałe podczas transportu i obsługi (z wyłączeniem ubezpieczenia transportowego dla klientów), w wyniku wypadku lub niewłaściwego bądź nieprawidłowego użytkowania tego produktu; wady produktów lub komponentów niewyprodukowanych przez firmę MACHEREY-NAGEL lub uszkodzenia wynikające z takich komponentów lub produktów firm innych niż MACHEREY-NAGEL.

Firma MACHEREY-NAGEL nie udziela żadnych innych gwarancji, a W SZCZEGÓLNOŚCI WYKLUCZA WSZELKIE INNE GWARANCJE JAKIEGOKOLWIEK RODZAJU LUB JAKIEJKOLWIEK NATURY, BEZPOŚREDNIO LUB POŚREDNIO, WYRAŻNE LUB DOROZUMIANE, W TYM MIĘDZY INNYMI DOTYCZĄCE PRZYDATNOŚCI, TRWAŁOŚCI, ODTWARZALNOŚCI DO OKREŚLONEGO CELU LUB UŻYTKOWANIA, WARTOŚCI HANDLOWEJ, STANU LUB INNYCH KWESTII DOTYCZĄCYCH PRODUKTÓW FIRMY MACHEREY-NAGEL, I ZRZEKA SIĘ TYCH GWARANCJI.

W żadnym wypadku firma MACHEREY-NAGEL nie ponosi odpowiedzialności za roszczenia z tytułu jakichkolwiek innych szkód, bezpośrednich, pośrednich, przypadkowych, kompensacyjnych, przewidywalnych, następczych lub specjalnych (w tym m.in. utraty użytkowania, przychodów lub zysków), niezależnie od tego, czy są one oparte na gwarancji, umowie, czynie niedozwolonym (w tym zaniedbaniu) lub ścisłej odpowiedzialności powstałej w związku ze sprzedażą lub niezgodnością produktów firmy MACHEREY-NAGEL z określonymi specyfikacjami. Niniejsza gwarancja ma charakter wyłączny. Firma MACHEREY-NAGEL nie udziela żadnych innych gwarancji wyrażanych ani dorozumianych.

Gwarancja opisana w niniejszym dokumencie oraz dane, specyfikacje i opisy tego produktu firmy MACHEREY-NAGEL pojawiające się w opublikowanych katalogach i dokumentacji

produktu firmy MACHEREY-NAGEL są wyłącznymi oświadczeniami firmy MACHEREY-NAGEL dotyczącymi produktu i gwarancji. Żadne inne oświadczenia lub oświadczenia, pisemne lub ustne, składane przez pracowników, agentów lub przedstawicieli firmy MACHEREY-NAGEL, z wyjątkiem oświadczeń pisemnych podpisanych przez należycie upoważnionego przedstawiciela firmy MACHEREY-NAGEL, nie są dozwolone; klient nie powinien na nich polegać i nie stanowią części umowy sprzedaży ani niniejszej gwarancji.

Oświadczenia dotyczące produktów mogą ulec zmianie. W związku z tym prosimy o kontakt z naszym zespołem serwisu technicznego w celu uzyskania najbardziej aktualnych informacji na temat produktów firmy MACHEREY-NAGEL. Można również skontaktować się z lokalnym dystrybutorem w celu uzyskania ogólnych informacji naukowych. Zastosowania wymienione w dokumentacji firmy MACHEREY-NAGEL są dostarczane wyłącznie w celach informacyjnych. Firma MACHEREY-NAGEL nie gwarantuje, że wszystkie zastosowania zostały przetestowane w laboratoriach firmy MACHEREY-NAGEL przy użyciu produktów firmy MACHEREY-NAGEL. Firma MACHEREY-NAGEL nie gwarantuje poprawności żadnego z tych zastosowań.

Ostatnia aktualizacja: Kwiecień 2022 r./Wer. 05

Powód zmiany:

Dodanie danych analitycznych i klinicznych do rozdziału 2.5. Odniesienie do nowych języków instrukcji obsługi (rozdział 1.3).

---

Znaki towarowe:

BD VACUETTE jest znakiem towarowym firmy BD

NucleoSpin<sup>®</sup> jest znakiem towarowym firmy MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG

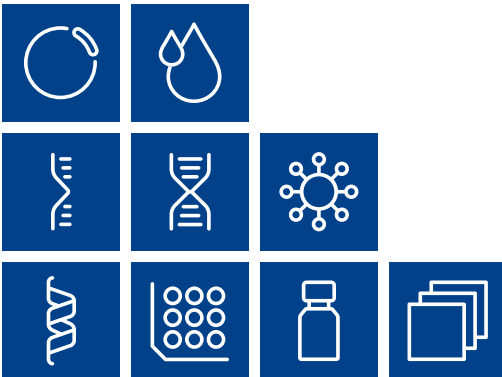
S-Monovette jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Sarstedt

Vacuette jest znakiem towarowym GREINER BIO-ONE

Wszystkie użyte nazwy i oznaczenia mogą być markami, znakami towarowymi lub zastrzeżonym oznakowaniem ich odpowiednich właścicieli – także jeśli nie stanowią specjalnego oznaczenia. Wymienianie produktów i marek jest tylko rodzajem informacji (tzn. nie obraża znaków towarowych i marek i nie może być traktowane jako rodzaj rekomendacji lub oceny). W odniesieniu do tych produktów lub usług nie możemy udzielić żadnych gwarancji dotyczących doboru, skuteczności lub działania







Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

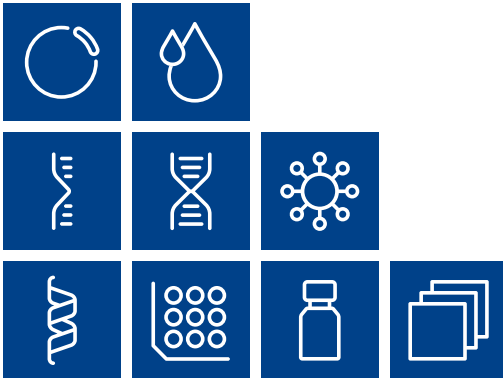
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



[www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)

**MACHEREY-NAGEL**



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG  
Valenciennner Str. 11  
52355 Düren · Germany

DE	Tel.: +49 24 21 969-0	info@mn-net.com
CH	Tel.: +41 62 388 55 00	sales-ch@mn-net.com
FR	Tel.: +33 388 68 22 68	sales-fr@mn-net.com
US	Tel.: +1 888 321 62 24	sales-us@mn-net.com