



chemagic Plasma D2.0 Kit

(Art.-Nr. D-1047)



Symbole

 240	Kit enthält Reagenzien für 240 Isolierungen
	Informationen im Handbuch V081116
	Verfallsdatum
	Chargennummer
	In-vitro Diagnostikum
	Temperaturbeschränkungen
REF	D-1047
	chemagen Biopolymer-Technologie Aktiengesellschaft Arnold-Sommerfeld-Ring 2 D-52499 Baesweiler Tel.: +49-2401-805500

Anwendungszweck

Mit dem *chemagic Plasma D2.0 Kit* werden virale Nukleinsäuren aus humanem Serum oder Plasma zum nachfolgenden Einsatz in der In-vitro Diagnostik isoliert und aufgereinigt. Das Kit ist für die automatisierte Durchführung mit dem *chemagic Magnetic Separation Module I* zu verwenden.

Das Produkt ist ausschließlich durch Personal anzuwenden, das im Umgang mit Nukleinsäure-separations- und Amplifikationstechniken geschult ist. Um Abweichungen der nachfolgenden diagnostischen Ergebnisse zu minimieren, ist das Kit in Verbindung mit einer internen Kontrolle sowie mit positiven und negativen Kontrollen zu verwenden, die je nach nachfolgendem Test sowohl während der Probenvorbereitung als auch während der Probenamplifikation und -detektion mitzuführen sind.

Inhalt

Symbole	1
Anwendungszweck	1
Qualitätskontrolle	3
Anwendungseinschränkungen.....	3
Haltbarkeit und Lagerung	3
Inhalt pro Verpackungseinheit (entspr. 240 Isolierungen aus 2 ml Serum oder Plasma)	4
Sicherheitshinweise	5
Vom Anwender bereitzustellende Reagenzien und Ausrüstung	6
Aufreinigungsprotokoll in Verbindung mit dem chemagic Magnetic Separation Module I	6
Protokoll-Schritte ohne Verwendung eines Lysis-Prämixes	6
Protokoll-Schritte bei der Verwendung eines Lysis-Prämixes	7
Positionieren der Racks und Reaktionsgefäße	8
Allgemeine Anmerkungen.....	8
Troubleshooting	9

Funktionsprinzip

Das *chemagic Plasma D2.0 Kit* basiert auf chemagens patentrechtlich geschützter Magnetpartikel-Technologie. Im Isolierungsprozess werden in Plasma- oder Serumproben enthaltene Viren zunächst chemisch aufgeschlossen. Die freigesetzten viralen Nukleinsäuren binden an kleine magnetisierbare Partikel, die anschließend magnetisch aus den aufgeschlossenen Seren oder Plasmen isoliert werden. In weiteren Schritten werden enthaltene Verunreinigungen ausgewaschen und die viralen Nukleinsäuren in ein Elutionsmedium überführt. Durch die automatisierte Prozessführung mit dem *chemagic Magnetic Separation Module I* werden Kreuzkontaminationen ausgeschlossen und eine sichere Handhabung potentiell infektiöser Probenmaterialien gewährleistet.

Qualitätskontrolle

Jede Charge ist gemäß chemagens umfassendem Qualitätssicherungssystem getestet. Vorgehensweisen die von der im Handbuch beschriebenen Vorgabe abweichen, können zu unzureichenden Ergebnissen führen.

Anwendungseinschränkungen

Das Kit ist zur Verwendung von humanem Serum oder Plasma vorgesehen. Das Kit ist nicht für den Einsatz von Vollblut- oder Gewebeproben bestimmt. Für sonstige Probenmaterialien liegen keine Daten bezüglich der Isolierungseffizienz vor.

Haltbarkeit und Lagerung

Die Verfallsdaten sind auf der Verpackung und den Komponenten des Kits angezeigt. Alle Kit-Komponenten werden im Lieferzustand bei Raumtemperatur gelagert.

Lysis Buffer 1 und Poly(A) RNA Buffer sind unter Lichtausschluss aufzubewahren. Bei Lagerung des Lysis Buffer 1 können sich Präzipitate bilden, die vor Verwendung des Puffers durch Erhitzen auf 55 °C wieder in Lösung gebracht werden müssen. Präzipitate in Poly(A) RNA-Lösung lassen sich bei Raumtemperatur wieder in Lösung bringen.

Protease- und Poly(A) RNA-Lösung müssen bei 4 °C gelagert werden. Unter diesen Bedingungen haben die Lösungen eine Haltbarkeit von 6 Wochen. Zur Langzeitaufbewahrung muss Protease- und Poly(A) RNA-Lösung aliquotiert und bei -20 °C gelagert werden. Einmal aufgetaute Protease- und Poly(A) RNA-Lösungen dürfen nicht wieder eingefroren werden.

Inhalt pro Verpackungseinheit (entspr. 240 Isolierungen aus 2 ml Serum oder Plasma)

1. **Magnetic Beads:** 14 mL
2. **Lysis Buffer 1:** 320 mL
[Guanidinthiocyanat 43 - 50 %]
3. **Binding Buffer 2:** 1250 mL
[Tris-HCl-Puffer, Sorbitansesquioleat 2,5 - 4 %, Natriumperchlorat 25 - 28 %, Ethanol 20 - 25 %]
4. **Wash Buffer 3:** 800 mL
[Tris-HCl-Puffer, Sorbitansesquioleat <1 %, Natriumperchlorat 15 - 18 %, Ethanol 20 - 25 %]
5. **Wash Buffer 4:** 800 mL
[Ethanol 70 – 80 %]
6. **Elution Buffer 5:** 50 mL
[10 mM; Tris-HCl-Puffer pH 8,0]
7. **Poly(A) RNA:** 5 x 350 µg
8. **Poly(A) RNA Buffer:** 5 x 500 µL
9. **Protease:** 5.5 mL
10. **Disposable Tips:** 240 Stück
11. **4 mL-Reaktionsgefäße:** 240 Stück
12. **13 mL-Reaktionsgefäße:** 48 Stück
13. **10 mL-Deep Well Platten:** 30 Stück

Sicherheitshinweise

Tragen Sie zum sicheren Umgang mit Chemikalien immer Schutzbrille, Einmal-Schutzhandschuhe und einen Laborkittel. Im Sicherheitsdatenblatt (MSDS) sind die Sicherheitsinformationen ausführlich beschrieben.

Reagenz 1: Magnetic Beads, keine gefährlichen Inhaltsstoffe

Reagenz 2: Lysis Buffer 1

Guanidine-Thiocyanate, CAS No. 593-84-0, EC No. 209-812-1,
Xn R20/21/22-32-52/53, S13-61



Reagenz 3: Binding Buffer 2

Sorbitan Sesquioleate CAS No.8007-43-0 S23-24/25
Sodium Perchlorate CAS No.7601-89-0 EC No.231-511-9, Xn R9-22, S13-22-27
Ethanol CAS No.64-17-5 EC No.200-578-6, F R11



Reagenz 4: Wash Buffer 3

Ethanol CAS No.64-17-5 EC No.200-578-6, F R11, S7-16
Sorbitan Sesquioleate CAS No.8007-43-0 S23-24/25
Sodium Perchlorate CAS No.7601-89-0 EC No.231-511-9, Xn R9-22, S13-22-27



Reagenz 5: Wash Buffer 4

Ethanol CAS No.64-17-5 EC No.200-578-6, F R11, S7-16



Reagenz 6: Elution Buffer 5, keine gefährlichen Inhaltsstoffe

Reagenz 7: Protease

Protease CAS No.9036-06-0 EC No.232-909-5, Xn S22-24/25



Reagenz 8: Poly(A) RNA, keine gefährlichen Inhaltsstoffe

Reagenz 9: Poly(A) RNA Buffer

Guanidine-Thiocyanate, CAS No.593-84-0, EC No.209-812-1,
Xn R20/21/22-32-52/53, S13-61



Vom Anwender bereitzustellende Reagenzien und Ausrüstung

RNase-freies Wasser, Einweg-Schutzhandschuhe, Pipetten und Pipettenspitzen mit Aerosolbarriere, 14 mL-Reaktionsgefäße, Wasserbad. Stellen Sie sicher, dass alle verwendeten Materialien, die in Kontakt mit der Probe kommen, RNase-frei sind.

Aufreinigungsprotokoll in Verbindung mit dem chemagic Magnetic Separation Module I

Automatenprotokoll: chemagic Plasma D2.0 24 Rod Head V081001.che

Das Protokoll ist für die gleichzeitige Bearbeitung von 1 - 24 Proben geeignet. Die Racks für die Disposable Tips, die 4 mL-, 13 mL- und 14 mL-Reaktionsgefäße sowie die Kavitäten der 10 mL-Deep Well Platten sind entsprechend der Anzahl der zu präparierenden Proben zu befüllen (s.u. Protokoll-Schritte).

(Ausführliche Informationen zum Umgang mit dem chemagic Magnetic Separation Module I entnehmen Sie dem Handbuch)

Arbeiten, die vor dem Beginn des automatisierten Isolierungsprozesses durchzuführen sind:

- Prüfen Sie die Kit-Bestandteile nach der Lieferung auf Beschädigungen. Im Falle von Beschädigungen wenden Sie sich an den zuständigen Lieferanten.
- Sie erhalten die benötigte **Protease**-Lösung und **Poly(A) RNA**-Lösung indem Sie die lyophilisierte **Protease** in Aqua dest. (Volumeninformation ist auf dem Gefäß angegeben) und **Poly(A) RNA** in 440 µL **Poly(A) RNA Buffer** pro Gefäß lösen.
- Heizen Sie ein Wasserbad auf 55 °C vor.

Protokoll-Schritte ohne Verwendung eines Lysis-Prämixes

- Wählen Sie das Protokoll „**chemagic Plasma D2.0 24 Rod Head V081001.che**“ und drücken Sie die **[Insert IDs]**-Schaltfläche. Bei deaktivierten *Enhanced Functions*, wird der Prozess automatisch ohne Betätigung der **[Insert IDs]**-Schaltfläche fortgesetzt.
- Sind die *Enhanced Functions* aktiviert, folgen Sie den von der Software vorgegebenen Anweisungen und geben die IDs für Proben, Eluate und Racks ein.
- Pipettieren Sie 1,2 mL **Lysis Buffer 1** in das 14 mL-Reaktionsgefäß.
- Pipettieren Sie 2,0 mL Probenmaterial in das mit **Lysis Buffer 1** gefüllte 14 mL-Reaktionsgefäß.
- Geben Sie 7 µL **Poly(A) RNA**-Lösung, 20 µL **Protease**-Lösung und ggf. eine interne Kontrolle zum Probenmaterial/**Lysis Buffer 1**-Gemisch.
- Durchmischen Sie das Probenmaterial/**Lysis Buffer 1**-Gemisch sorgfältig und inkubieren es 10 Minuten bei 55 °C im Wasserbad.
- Befüllen Sie während der Inkubationszeit eine 10 mL-Deep Well Platte mit 3 mL **Wash Buffer 3**, eine 10 mL-Deep Well Platte mit 3 mL **Wash Buffer 4** sowie die 4 mL-Reaktionsgefäße mit 80 - 150 µL **Elution Buffer 5**. Wird ein größeres Volumen als 150 µL **Elution Buffer 5** eingesetzt, kann eine Verringerung der Sensitivität in der nachfolgenden Detektion nicht ausgeschlossen werden.

- Positionieren Sie das Rack mit den **Disposable Tips** und die mit **Wash Buffer 3** und **Wash Buffer 4** vorbefüllten 10 mL-Deep Well Platten sowie das Rack der mit **Elution Buffer 5** befüllten 4 mL-Reaktionsgefäße in die vorgesehenen Positionen auf der Transportschiene des *chemagic Magnetic Separation Module I* (siehe unten: „Positionieren der Racks und Reaktionsgefäße“).
- **Binding Buffer 2, Wash Buffer 3** und **Wash Buffer 4** enthalten Ethanol. Vermeiden Sie, dass die Gefäße längere Zeit geöffnet sind und befüllen Sie die 10 mL-Deep Well Platten erst zum vorgegebenen Zeitpunkt. Nur so wird ein optimales Separationsergebnis gewährleistet.
- Schwenken Sie das Gefäß mit den **Magnetic Beads** zur Resuspension sorgfältig. Eine vollständige Resuspension ist erreicht, wenn keine sedimentierten **Magnetic Beads** am Gefäßboden mehr zu erkennen sind.
- Nach beendeter Lysezeit versetzen Sie jedes Probenmaterial/**Lysis Buffer 1**-Gemisch mit 50 µL **Magnetic Beads**-Suspension und geben sofort jeweils 4,8 mL **Binding Buffer 2** hinzu. Positionieren Sie das Rack mit dem erhaltenen Bindungsgemisch in Position 2 auf der Transportschiene und schließen Sie die Abdeckung.
- Betätigen Sie die [**Start**]-Schaltfläche zum Starten des Protokolls.

Protokoll-Schritte bei der Verwendung eines Lysis-Prämixes

- Wählen Sie das Protokoll "**chemagic Plasma D2.0 24 Rod Head V081001.che**" und drücken Sie die [**Insert IDs**]-Schaltfläche. Bei deaktivierten *Enhanced Functions*, wird der Prozess automatisch ohne Betätigen der [**Insert IDs**]-Schaltfläche fortgesetzt.
- Sind die *Enhanced Functions* aktiviert, folgen Sie den von der Software vorgegebenen Anweisungen und geben die IDs für Proben, Eluate und Racks ein.
- Legen Sie 20 µL **Protease**-Lösung in die 14 mL-Reaktionsgefäße für das Probenmaterial vor.
- Geben Sie 2,0 mL Probenmaterial zur Protease.
- Bereiten Sie einen Lysis-Prämix bestehend aus 7 µL **Poly(A) RNA**-Lösung, 1,2 mL **Lysis Buffer 1** und ggf. interner Kontrolle pro Probe vor.
- Geben Sie unverzüglich das entsprechende Volumen des Lysis-Prämixes zum Probenmaterial.
- Durchmischen Sie das Probenmaterial/**Lysis Buffer 1**-Gemisch sorgfältig und inkubieren es 10 Minuten bei 55 °C im Wasserbad.
- Befüllen Sie während der Inkubationszeit eine 10 mL-Deep Well Platte mit 3 mL **Wash Buffer 3**, eine 10 mL-Deep Well Platte mit 3 mL **Wash Buffer 4** sowie die 4 mL-Reaktionsgefäße mit 80 - 150 µL **Elution Buffer 5**. Wird ein größeres Volumen als 150 µL **Elution Buffer 5** eingesetzt, kann eine Verringerung der Sensitivität in der nachfolgenden Detektion nicht ausgeschlossen werden.
- Positionieren Sie das Rack mit den **Disposable Tips** und die mit **Wash Buffer 3** und **Wash Buffer 4** vorbefüllten 10 mL-Deep Well Platten sowie das Rack der mit **Elution Buffer 5** befüllten 4 mL-Reaktionsgefäße in die vorgesehenen Positionen auf der Transportschiene des *chemagic Magnetic Separation Module I* (siehe unten: „Positionieren der Racks und Reaktionsgefäße“).

- **Binding Buffer 2, Wash Buffer 3** und **Wash Buffer 4** enthalten Ethanol. Vermeiden Sie, dass die Gefäße längere Zeit geöffnet sind und befüllen Sie die 10 mL-Deep Well Platten erst zum vorgegebenen Zeitpunkt. Nur so wird ein optimales Separationsergebnis gewährleistet.
- Schwenken Sie das Gefäß mit den **Magnetic Beads** zur Resuspension sorgfältig. Eine vollständige Resuspension ist erreicht, wenn keine sedimentierten **Magnetic Beads** am Gefäßboden mehr zu erkennen sind.
- Nach beendeter Lysezeit versetzen Sie jedes Probenmaterial/**Lysis Buffer 1**-Gemisch mit 50 µL **Magnetic Beads**-Suspension und geben sofort jeweils 4,8 mL **Binding Buffer 2** hinzu. Positionieren Sie das Rack mit dem erhaltenen Bindungsgemisch in Position 2 auf der Transportschiene und schließen Sie die Abdeckung.
- Betätigen Sie die [**Start**]-Schaltfläche zum Starten des Protokolls.

Positionieren der Racks und Reaktionsgefäße

Position 1: Rack mit Disposable Tips.

Position 2: Proben-Rack mit 14 mL-Reaktionsgefäßen. Bei der Positionierung auf der Transportschiene enthalten die 14 mL-Reaktionsgefäße

2 mL Serum oder Plasma

7 µL **Poly(A) RNA**-Lösung

20 µL **Protease**-Lösung

1,2 mL **Lysis Buffer 1**

4,8 mL **Binding Buffer 2** und

50 µL **Magnetic Beads**-Suspension

S.o. detaillierte Beschreibung unter "Protokoll-Schritte"

Position 3: 10 mL-Deep Well Platten befüllt mit 3 mL **Wash Buffer 3**.

Position 4: 10 mL-Deep Well Platten befüllt mit 3 mL **Wash Buffer 4**.

Position 5: Rack mit leeren 13 mL-Reaktionsgefäßen (die Reaktionsgefäße werden nach dem Verwerfen gebrauchter Disposable Tips wieder verwendet).

Position 6: Rack mit 4 mL-Reaktionsgefäßen befüllt mit 80 – 150 µL **Elution Buffer 5**.

Allgemeine Anmerkungen

- Es wird ausdrücklich empfohlen, die isolierten Nukleinsäuren umgehend in einer nachfolgenden Anwendung einzusetzen. Werden die isolierten Nukleinsäuren nicht umgehend nach der Präparation verwendet, lagern Sie die Extrakte max. 1 Tag bei 4 °C ansonsten bei mind. -20 °C oder bevorzugt bei -70 °C.
- Alle Komponenten können manuell oder unter Verwendung geeigneter automatisierter Systeme abgefüllt werden.

Troubleshooting

Problem	Mögliche Ursache	Empfehlung/Problemlösung
Rote Eluate/ unzureichende Nachweisempfindlichkeit	Spuren von Erythrozyten im Probenmaterial	Vermeiden Sie die Verschleppung von Erythrozyten in der Probenvorbereitung
unzureichende Nachweisempfindlichkeit der Positivkontrollen	Wash Buffer 3 und Wash Buffer 4 wurden vertauscht	Stellen Sie sicher, dass die Puffer bei der Anwendung nicht vertauscht werden
	Eine fehlerhafte Menge an Magnetic Beads wurde zugegeben	Resuspendieren Sie die Magnetic Beads sorgfältig vor der Zugabe
	Eine unzureichende Menge an Binding Buffer 2 wurde zugegeben	Setzen Sie die im Handbuch vorgegebene Menge an Binding Buffer 2 ein
	Puffer sind an Ethanol verarmt	Schließen Sie die Puffergefäße nach Gebrauch sorgfältig um die Verdunstung von Ethanol zu vermeiden
unzureichende Nachweisempfindlichkeit viraler Nukleinsäuren	Unzureichende Lyse	Erhitzen Sie den Lysis Buffer 1 im Wasserbad oder Heizblock für mindestens 10 min auf 55 °C Setzen Sie die im Handbuch vorgegebene Menge an Lysis Buffer 1 ein Durchmischen Sie das Protease und Poly(A) RNA-haltige Probenmaterial/ Lysis Buffer 1-Gemisch sorgfältig
	Wash Buffer 3 und Wash Buffer 4 wurden vertauscht	Stellen Sie sicher, dass die Puffer bei der Anwendung nicht vertauscht werden
	Eine fehlerhafte Menge an Magnetic Beads wurde zugegeben	Resuspendieren Sie die Magnetic Beads sorgfältig vor der Zugabe
	Eine unzureichende Menge an Binding Buffer 2 wurde zugegeben	Setzen Sie die im Handbuch vorgegebene Menge an Binding Buffer 2 ein
	Puffer sind an Ethanol verarmt	Schließen Sie die Puffergefäße nach Gebrauch sorgfältig, um die Verdunstung von Ethanol zu vermeiden
Kontaminierte oder inaktive Protease	Sichtbares mikrobielles Wachstum in der Proteaselösung	Benutzen Sie steriles Wasser zum Lösen der Protease
	Fehlerhafte Lagerung der Proteaselösung	Lagern Sie die Proteaselösung bei 4 °C Verwahren Sie die Aliquots bei -20 °C Benutzen Sie die Lösung nicht länger als 6 Wochen Frieren Sie einmal aufgetaute Protease nicht wieder ein. Vermeiden Sie ein Vormischen der Protease mit Lysis Buffer 1, um eine vorzeitige Inaktivierung auszuschließen
Funktionsstörung des Gerätes	z.B. mechanische oder elektronische Probleme	Nehmen Sie zu chemagen oder dem zuständigen Vertriebspartner Kontakt auf