



AmoyDx[®] Tissue DNA Kit (Spin-Säule)

Gebrauchsanweisung

REF 8.02.0078 36 Tests/Kit



Amoy Diagnostics Co., Ltd.
Nr. 39, Dingshan Road, Haicang District,
361027 Xiamen, Volksrepublik China
Tel: +86 592 6806835
Telefax: +86 592 6806839
E-Mail: sales@amoydx.com
Webseite: www.amoydx.com



QbD RepS BV
Groenenborgerlaan 16
2610 Wilrijk
Belgien



Qarad Suisse S.A.
World Trade Center
Avenue Gratta-Paille 2
1018 Lausanne
Schweiz



Umedwings Netherlands B.V.
Treubstraat 1, 2288EG, Rijswijk,
Niederlande
SRN: NL-IM-000000454
Diese Angaben zum Importeur gelten nur für
den EU-Markt

Version: V02

Zweckbestimmung

Das AmoyDx® Tissue DNA Kit wurde speziell für die Isolierung und Aufreinigung von DNA aus menschlichem Gewebe oder Pleuraergusspräzipitaten entwickelt. Die aufgereinigte DNA eignet sich für Downstream-Anwendungen wie PCR-Amplifikationen, Genotyp-Analysen, Restriktionsenzymverdauungen und andere Experimente.

Vorgesehener Anwender

Das AmoyDx® Tissue DNA Kit ist ausschließlich für die Verwendung durch ausgebildetes Laborpersonal bestimmt.

Prinzip

Dieses Kit verfügt über ein effizientes Gewebe-Lysepuffersystem, kombiniert mit einer Silikonmembran-Adsorptionssäulenteknologie, um die genomische DNA aus menschlichem Gewebe oder Pleuraergusspräzipitaten zu isolieren und aufzureinigen.

Inhalt des Kits

Dieses Kit enthält genügend Reagenzien, um 36 Tests durchzuführen (Tabelle 1).

Tabelle 1: Inhalt des Kits

Röhrchen-Nr.	Komponente	Kennzeichnung	Menge
—	DNA-Spin-Säulen	DNA Spin Columns DNA 吸附柱	36 Stck. ×1
—	Sammelröhrchen (2 mL)	Collection Tubes (2 mL) 2 mL 收集管	72 Stck. ×1
—	Zentrifugenröhrchen (1,5 mL)	Centrifugal Tubes (1.5 mL) 1.5 mL 离心管	72 Stck. ×1
1	Puffer DTL	Buffer DTL 裂解液 DTL	10 mL ×1
2	Proteinase K-Lösung	Proteinase K Solution 蛋白酶 K 溶液	900 µL ×1
3	Puffer DTB	Buffer DTB 结合液 DTB	10 mL ×1
4	Puffer DW1	Buffer-DW1 洗涤液 DW1	13 mL ×1
5	Puffer DW2	Buffer DW2 洗涤液 DW2	6 mL ×1
6	Puffer DTE	Buffer DTE 洗脱液 DTE	8 mL ×1

Hinweis:

- Puffer DTB** und **Puffer DW1** enthalten Guanidinsalz, das nicht in Kontakt mit bleichmittelhaltigen Desinfektionsmitteln oder säurehaltigen Lösungen gebracht werden darf.
- Vor der ersten Verwendung geben Sie 17 mL Ethanol (96~100 %) zu **Puffer DW1** und mischen Sie gründlich; geben Sie 24 mL Ethanol (96~100 %) zu **Puffer DW2** und mischen Sie ebenfalls gründlich. Kreuzen Sie das Kontrollkästchen auf dem Flaschenetikett an.

Lagerung und Stabilität

Die Haltbarkeit des Kits beträgt 12 Monate. Das Kit sollte trocken bei Raumtemperatur (10~30 °C) transportiert und gelagert werden.

Zusätzlich benötigte Reagenzien und Ausrüstung

- Ethanol (96~100 %).
- RNase A (Optional).
- Lösung zur Gewebekonservierung.
- Wasserbad oder beheizter Orbital-Inkubator (90 °C einstellbar).
- Mikrozentrifuge (10.000~12.000 ×g einstellbar).
- Vortexer.

- 7) Handzentrifuge.
- 8) Sterile, DNase-freie Pipettenspitzen.

Vorsichtsmaßnahmen und Anforderungen an die Handhabung

Vorsichtsmaßnahmen

- Bitte lesen Sie vor der ersten Verwendung die Anleitung sorgfältig durch und machen Sie sich mit allen Komponenten des Kits vertraut. Befolgen Sie während des Gebrauchs strikt die Anweisungen.
- Verwenden Sie das Kit oder einzelne Komponenten des Kits NICHT nach Ablauf des Verfallsdatums.
- Verwenden Sie für die Tests KEINE Reagenzien aus anderen Chargen.
- Verwenden Sie KEINE Reagenzien anderer Testkits.

Sicherheitsinformationen

- **Puffer DTB** und **Puffer DWI** enthalten Guanidinsalz, das in Verbindung mit Bleichmittel hochreaktive Verbindungen bilden kann. **Geben Sie keine Bleichmittel oder säurehaltigen Lösungen direkt in den Probenaufbereitungsabfall.** Wenn die Flüssigkeit, die diesen Puffer enthält, verschüttet wird, reinigen Sie die betroffene Stelle mit einem geeigneten Laborreinigungsmittel und Wasser.



Signalwort

Gefahrenhinweise:

H302+H332:

H315:

H319:

Sicherheitshinweise

P261:

P264:

P301+P312:

P302+P352:

P304+P340+P312:

P305+P351+P338:

Warnung

Gesundheitsschädlich beim Verschlucken oder beim Einatmen.

Verursacht Hautreizungen.

Verursacht schwere Augenreizungen.

Vermeiden Sie das Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol.

Waschen Sie die Haut nach dem Umgang gründlich.

BEIM VERSCHLUCKEN: Rufen Sie ein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder einen Arzt an, wenn Sie sich unwohl fühlen.

BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Waschen Sie sich mit viel Wasser und Seife.

BEI EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie für eine ungehinderte Atmung.

BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

- Behandeln Sie alle Proben und Komponenten des Kits als potenziell infektiöses Material unter Anwendung sicherer Laborverfahren.
- Verwendung nur durch geschultes Fachpersonal. Bitte tragen Sie beim Umgang mit den Reagenzien einen geeigneten Laborkittel und Einweghandschuhe.
- Wenn ein verschüttetes Produkt potenziell infektiöse Reagenzien enthält, reinigen Sie den betroffenen Bereich zuerst mit Laborreinigungsmittel und Wasser und anschließend mit 1 % (v/v) Natriumhypochlorid oder einem geeigneten Labordesinfektionsmittel.
- Vermeiden Sie den Kontakt von Haut, Augen und Schleimhäuten mit den Chemikalien. Im Falle eines Kontakts spülen Sie sofort mit Wasser.
- NICHT mit dem Mund pipettieren.

Dekontamination und Entsorgung

- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien sollten Sie Handschuhe tragen und diese häufig wechseln, um eine Kontamination zu vermeiden.
- Verwenden Sie beim Umgang mit Proben und Reagenzien separate Pipetten und Filterspitzen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Alle Einwegmaterialien sind für den einmaligen Gebrauch bestimmt. BITTE NICHT wiederverwenden.
- Die nicht verwendeten Reagenzien, das gebrauchte Kit und der Abfall müssen ordnungsgemäß entsorgt werden.

Reinigung

- Reinigen Sie nach dem Experiment den Arbeitsbereich und besprühen Sie die Pipetten und Geräte mit 75 %igem Ethanol oder 10 % Natriumhypochlorid.

Probenentnahme, Transport und Lagerung

Stellen Sie sicher, dass reichlich DNA-Enzyme im Gewebe vorhanden sind. Während der Zerkleinerung und Nukleinsäure-Trennung ist die DNA leicht biologisch abbaubar. Bevor Sie das Kit zur DNA-Isolierung verwenden, beachten Sie folgende Empfehlungen:

- 1) Die entnommene frische Gewebeprobe sollte sofort in einem 4- bis 8-fachen Volumen einer Gewebekonservierungslösung aufbewahrt werden. Lagern und verwenden Sie die Probe entsprechend den Anforderungen und dem Verfahren.
- 2) Die Gewebeprobe sollte bei -70 °C nicht länger als 3 Jahre gelagert werden.

- 3) Wenn Sie eine andere Gewebekonservierungslösung verwenden, waschen Sie die Gewebeprobe vor dem Vorgang der DNA-Isolierung mit normaler Kochsalzlösung.

Assay-Verfahren

1. Probenvorbehandlung

- 1.1 Für Gewebeproben: Überführen Sie 20~80 mg zerkleinertes Gewebe in ein sauberes 1,5 mL Zentrifugenröhrchen und geben Sie 230 µL **Puffer DTL** hinzu.

Hinweis:

- Entnehmen Sie eine Gewebeprobe in etwa der Größe eines Reiskorns. Ein Mangel oder Überschuss an Gewebe kann die Performance des Kits beeinträchtigen.
- Das Gewebe kann durch Vermahlung in flüssigem Stickstoff oder durch Scherung aufbereitet werden. Gründliches Zerkleinern erleichtert die Gewebelyse.

- 1.2 Für Pleuraflüssigkeits- oder Zytologieproben: Nehmen Sie 10~50 mL Pleuraflüssigkeitsprobe oder eine geeignete Zellsuspension, zentrifugieren Sie bei 3.000 ×g für 10 Minuten und entfernen Sie den Überstand durch Pipettieren. Überführen Sie 20~80 mg des Präzipitats in ein sauberes 1,5 mL Zentrifugenröhrchen und geben Sie 230 µL **Puffer DTL** hinzu.

2. DNA-Extraktion

Hinweis:

- Vor der ersten Verwendung geben Sie bitte 17 mL Ethanol (96~100 %) zu **Puffer DW1**, und 24 mL Ethanol (96~100 %) zu **Puffer DW2**, und markieren Sie dies deutlich.
- Überprüfen Sie vor der DNA-Extraktion, dass die Reagenzien nicht auslaufen. Schütteln Sie die Reagenzien vorsichtig, um die Lösungen zu mischen. Wenn die Reagenzien Präzipitate enthalten, lösen Sie diese durch Erhitzen auf 50 °C auf.

- 2.1. Geben Sie 20 µL **Proteinase K-Lösung** in das obige Zentrifugenröhrchen mit der Probe, vortexen Sie es für 30 Sekunden und suspendieren Sie dann das Gewebe erneut.

Hinweis: Brechen Sie das Präzipitat vollständig auf, indem Sie, falls nötig, auf- und abpipettieren.

- 2.2. Zentrifugieren Sie das Zentrifugenröhrchen kurz und inkubieren Sie es unter den entsprechenden Bedingungen je nach Probentyp:

- A. Für chirurgische Gewebeproben: Inkubieren Sie bei 90 °C für 45 Minuten oder 56 °C über Nacht.
- B. Für Biopsie-Gewebeproben: Inkubieren Sie bei 90 °C für 20 Minuten.
- C. Für Pleuraflüssigkeits- oder Zytologieproben: Inkubieren Sie bei 56 °C für 1 Stunde.

Hinweis: Wenn Sie einen Thermomixer zur Verfügung haben, inkubieren Sie unter Schütteln bei 500 U/min.

- 2.3. Nehmen Sie das Probenröhrchen heraus und zentrifugieren Sie es kurz für ein paar Sekunden.

Hinweis:

- Passen Sie bei den hohen Temperaturen auf, dass die Röhrchenkappe nicht abspringt.
- Wenn Sie RNA-freie genomische DNA benötigen, lassen Sie die Probe auf Raumtemperatur abkühlen, fügen Sie 2 µL RNase A (100 mg/mL) hinzu, vortexen für 5 Sekunden, zentrifugieren kurz und inkubieren Sie für 5 Minuten bei Raumtemperatur.

- 2.4. Geben Sie 250 µL Ethanol (96~100 %) und anschließend 250 µL **Puffer DTB** hinzu, vortexen Sie für 10 Sekunden und zentrifugieren Sie bei 12.000 ×g für 1 Minute.

- 2.5. Übertragen Sie das gesamte Lysat auf die DNA-Spin-Säule (in einem 2 mL Sammelröhrchen), ohne den Rand zu benetzen, schließen Sie den Deckel und zentrifugieren Sie bei 12.000 ×g für 1 Minute. Verwerfen Sie den Durchfluss im Sammelröhrchen.

Hinweis: Berühren Sie die Membran nicht.

- 2.6. Geben Sie 600 µL **Puffer DW1** auf die DNA-Spin-Säule und zentrifugieren Sie bei 12.000 ×g für 30 Sekunden. Verwerfen Sie den Durchfluss im Sammelröhrchen.

- 2.7. Geben Sie 600 µL **Puffer DW2** auf die DNA-Spin-Säule und zentrifugieren Sie bei 12.000 ×g für 30 Sekunden. Verwerfen Sie das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss.

- 2.8. Geben Sie die DNA-Spin-Säule in ein sauberes 2 mL Sammelröhrchen und zentrifugieren Sie bei 12.000 ×g für 3 Minuten. Verwerfen Sie das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss.

- 2.9. Geben Sie die DNA-Spin-Säule in ein sauberes 1,5 mL Zentrifugenröhrchen. Öffnen Sie das Röhrchen und inkubieren Sie es für 3 Minuten bei 56 °C. Stellen Sie sicher, dass das restliche Ethanol verdampft ist, bevor Sie fortfahren.
- 2.10. Geben Sie 30~100 µL **Puffer DTE** in die Mitte der Membran. Berühren Sie die Membran nicht. Öffnen Sie das Röhrchen und inkubieren Sie es bei 56 °C für 2 Minuten. Zentrifugieren Sie bei 12.000 ×g für 1 Minute.
Hinweis: Eine zweifache Elution sorgt für eine höhere DNA-Ausbeute. (z.B. Wenn das Elutionsvolumen 100 µL beträgt, geben Sie zunächst 50 µL Puffer DTE in die Mitte der Membran, inkubieren bei 56 °C für 2 Minuten und zentrifugieren bei 12.000 ×g für 1 Minute. Geben Sie dann weitere 50 µL Puffer DTE in die Mitte der Membran, inkubieren Sie bei 56 °C für 2 Minuten und zentrifugieren Sie bei 12.000 ×g für 1 Minute.)
- 2.11. Die eluierte DNA ist sofort einsatzbereit. Wenn die DNA nicht innerhalb von 2 Stunden verwendet wird, lagern Sie sie bei -20 °C
Hinweis: Puffer DTE ist nur für die Elution und Lagerung von DNA, NICHT für andere Zwecke geeignet.

Leistungsmerkmale

Die Extraktionseffizienz des Kits wurde durch die Untersuchung von sechs klinischen Gewebe-, Pleuraflüssigkeits- oder Zytologieproben nachgewiesen.

- Extrahierte DNA: Mittlere Absorption bei 260 nm (A_{260}) $\geq 0,2$, und mittleres Verhältnis $A_{260}/A_{280} \geq 1,6$.

Einschränkungen

- 1) Die Qualität der extrahierten DNA unterliegt dem Einfluss von Faktoren wie Probenquelle, Probennahmeverfahren, Entnahmeort und Lagerbedingungen.
- 2) Die Qualität der Probe hat einen großen Einfluss auf die Qualität und Menge der aufgereinigten DNA.

Allgemeine Hinweise

Sollte es bei der Verwendung dieses Kits oder als Folge davon zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, melden Sie dies bitte dem Hersteller und Ihrer nationalen Behörde.

Referenzen

Chevillard S. A method for sequential extraction of RNA and DNA from the same sample, specially designed for a limited supply of biological material. *Biotechniques*. 1993 Jul;15(1):22-4

Symbole



Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/Europäischen Union



Hersteller



Chargennummer



Ausreichend für $<n>$ Tests



Gebrauchsanweisung beachten



Hier nach oben



Kitkomponenten



Hinzufügen von



Importeur



In-vitro-Diagnostikum



Katalognummer



Haltbarkeitsdatum



Temperaturgrenze



Trocken halten



Zerbrechlich, mit Vorsicht zu behandeln



Kreuzen Sie das Kästchen an, nachdem Sie Ethanol in das Fläschchen gegeben haben



Ethanol

Änderungshistorie

Änderung	Datum des Inkrafttretens	Änderungshistorie
B1.0	26.05.2022	Erste Ausgabe
V01	04.11.2022	<ol style="list-style-type: none"> 1. Fügen Sie das Symbol und die Informationen des Importeurs hinzu; 2. Änderungshistorie hinzufügen; 3. Verschieben Sie das "Gültigkeitsdatum" von der ersten auf die letzte Seite; 4. Umsetzung der neuen Kodierungsregeln.
V02	10.03.2025	Aktualisierung des europäischen und schweizerischen Bevollmächtigten