kolumienki.pl

syngen biotech

Syngen Viral Mini Kit

Syngen Viral Mini Kit PLUS

Zestawy do izolacji materiału genetycznego wirusów (DNA i RNA) z próbek:
- osocza
- surowicy
- płynów ustrojowych pozbawionych komórek
- pożywki znad hodowli komórkowych
- wymazów
- krwi pełnej

Instrukcja dla użytkownika, w. 2018.10

Informacje wstępne 3
Ograniczenia 3
Zawartość zestawów 4
Przechowywanie 4
Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem 5
Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem 5
Materiał wyjściowy i wydajność DNA 6
Ogólne wytyczne dotyczące obsługi zestawów Syngen 8
Elucja DNA 9
Kontrola wewnętrzna 9

Protokoły

Protokół 1 do zestawu Syngen Viral Mini: „Izolacja wirusowych kwasów nukleinowych z próbek surowicy, osocza, płynów ustrojowych pozbawionych komórek, pożywki znad hodowli komórkowej, krwi pełnej” 10

Protokół 2 do zestawu Syngen Viral Mini PLUS: „Izolacja wirusowych kwasów nukleinowych z próbek surowicy, osocza, płynów ustrojowych pozbawionych komórek, pożywki znad hodowli komórkowej, krwi pełnej” 13

Protokół 3: „Izolacja wirusowych kwasów nukleinowych z wymazów” 16

Samodzielne rozwiązywanie problemów 18

Przewodnik po zestawach serii Syngen® 20

Dziękujemy za wybór zestawu serii Syngen Viral i okazane nam zaufanie. Produkty serii Syngen Viral to wysokiej jakości zestawy odczynników do izolacji wirusowego DNA i RNA z szerokiej gamy próbek takich jak surowica, osocze, płyny ustrojowe pozbawione komórek i inne. Zastosowana technologia wykorzystuje technikę chromatografii na złożu krzemionkowym zamkniętym w membranie kolumienki. Uzyskany materiał genetyczny odznacza się wysoką czystością, wymaganą do zastosowań między innymi w technikach real-time PCR i microarray.

Niniejsza instrukcja dla użytkownika zawiera szczegółowe wytyczne dotyczące stosowania zestawów Syngen Viral Mini oraz Syngen Viral Mini PLUS. Rozdziały wstępne pomogą użytkownikowi przygotować się do wykonania procedur opisanych w dalszych rozdziałach. Zalecamy uważne przeczytanie całej instrukcji przed przystąpieniem do pracy.

Przy użyciu produktu powinna być zachowana uwaga i ostrożność. Zalecamy użytkownikom stosowanie się do zasad GLP (Dobrej Praktyki Laboratoryjnej). Między innymi należy stosować fartuch laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe i okulary ochronne.

Aby uzyskać więcej informacji o substancjach niebezpiecznych, które mogą być zawarte w niektórych składnikach zestawów, prosimy przeczytać Karty Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych (MSDS) dostępne u producenta.

W przypadku pytań, pozostajemy do Państwa dyspozycji. Życzymy sukcesów w pracy z zestawami Syngen.

Zespół Syngen Biotech

Ograniczenia

Zestawy serii Syngen Viral są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego. Nie będą uwzględniane żadne roszczenia wynikające z użycia zestawu do diagnozowania lub leczenia chorób.

Zawartość zestawu

Syngen Viral Mini Kit	**SY361020**	**SY361021**	**SY361022**
Liczba izolacji	**50**	**100**	**300**
Kolumienki W	50	100	300
Probówki do elucji 1,5 ml	50	100	300
Bufor lizujący WL	30 ml	60 ml	180 ml
Bufor wiążący WW – koncentrat	4 ml	8 ml	24 ml
Bufor płuczący WP1 – koncentrat	22 ml	44 ml	132 ml
Bufor płuczący WP2 – koncentrat	20 ml	40 ml	100 ml
Woda wolna od RNaz	6 ml	12 ml	20 ml
Probówki do płukania 2 ml	100	200	600

Syngen Viral Mini Kit PLUS	**SY361010**	**SY361011**	**SY361012**
Liczba izolacji	**50**	**100**	**300**
Kolumienki W	50	100	300
Probówki do elucji 1,5 ml	50	100	300
Bufor lizujący WL	35 ml	70 ml	200 ml
Carrier RNA	400 ug	800 ug	2200 ug
Bufor płuczący WP1 – koncentrat	22 ml	44 ml	132 ml
Bufor płuczący WP2 – koncentrat	20 ml	40 ml	100 ml
Woda wolna od RNaz	6 ml	12 ml	20 ml
Probówki do płukania 2 ml	100	200	600

Przechowywanie

Kolumienki W, a także wszystkie roztwory poza rozpuszczonym Carrier RNA, powinny być przechowywane w temperaturze pokojowej (15-25°C), chyba że na butelce określono inaczej.

Przechowywanie kolumienek W w wyższej temperaturze jest zabronione.

Bufor WL z dodanym Carrier RNA powinien być przechowywany w 4°C.

Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem

Do wszystkich protokołów:
- Etanol (96-100%)
- Probówki 1.5 ml (eppendorfki)
- Statyw
- Sterylne końcówki do pipet (najlepiej z filtrem)
- Pipety automatyczne nastawne
- Mikrowirówka
- Worteks
- PBS wolny od RNaz (opcjonalnie)

Do izolacji materiału genetycznego wirusów z wymazówek:
- PBS wolny od RNaz lub medium do transportu wirusów

Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem

Bufory płuczące i bufor wiążący

Bufory płuczące WP1 i WP2 oraz bufor wiążący WW (tylko zestaw Syngen Viral Mini Kit) są dostarczane jako koncentraty. Przed pierwszym użyciem dodaj do nich odpowiednią ilość etanolu (96-100%) i starannie wymieszaj. Poniższa tabela przedstawia sposób przygotowania buforów.

Syngen Viral Mini Kit Liczba próbek	**SY361020** **50**	**SY361021** **100**	**SY361022** **300**
Objętość etanolu, jaką należy dodać do koncentratu buforu płuczącego WP1	8 ml	16 ml	48 ml
Objętość etanolu, jaką należy dodać do koncentratu buforu płuczącego WP2	80 ml	80 ml (do każdej butelki)	200 ml (do każdej butelki)
Objętość etanolu, jaką należy dodać do koncentratu buforu wiążącego WW	30 ml	60 ml	180 ml

Syngen Viral Mini Kit PLUS Liczba próbek	**SY361010** **50**	**SY361011** **100**	**SY361012** **300**
Objętość etanolu, jaką należy dodać do koncentratu buforu płuczącego WP1	8 ml	16 ml	48 ml
Objętość etanolu, jaką należy dodać do koncentratu buforu płuczącego WP2	80 ml	80 ml (do każdej butelki)	200 ml (do każdej butelki)

Bufory po dodaniu etanolu powinny być szczelnie zamknięte i przechowywane w temperaturze pokojowej. Przed rozpoczęciem procedury zawsze wymieszaj rozpuszczone bufory przez obrócenie butelki kilka razy.

Carrier RNA
(dotyczy tylko zestawu Syngen Viral Mini Kit PLUS)

Carrier RNA (nośnikowy RNA) wchodzący w skład zestawu Syngen Viral Mini PLUS jest dostarczany w postaci liofilizowanej. Przed pierwszym użyciem zestawu należy sporządzić roztwór Carrier RNA w buforze WL o roboczym stężeniu ok. 11 ng/ul. W tym celu probówkę zawierającą liofilizat należy krótko zwirować, dodać 1 ml buforu WL, zamknąć i dokładnie wymieszać, aż do całkowitego rozpuszczenia. Następnie probówkę krótko zwirować, aby usunąć krople z wieczka, całość probówki dodać do butelki z resztą buforu WL i wymieszać dokładnie.
Bufor WL zawierający Carrier RNA należy przechowywać w temperaturze 4°C.

Materiał wyjściowy i wydajność izolacji

Zestawy serii Syngen Viral służą do izolacji całkowitego materiału genetycznego wirusów z szerokiej gamy próbek, takich jak osocze, surowica, płyny ustrojowe pozbawione komórek, pożywka znad hodowli komórkowych, wymazy, krew pełna. W przypadku dysponowania mniejszymi próbkami, lub w przypadku obawy o kondycję materiału genetycznego w próbce, zalecamy zastosowanie zestawu Syngen Viral Mini PLUS, który pozwala na izolację z mniejszej ilości materiału wyjściowego, a wydajność jest dodatkowo wspomagana przez Carrier

RNA. Poniższa tabela określa zalecane ilości materiału wyjściowego w zależności od zastosowanego zestawu.

Materiał wyjściowy	**Zestaw Syngen Viral Mini**	**Zestaw Syngen Viral Mini PLUS**
Surowica	200 ul (1000 ul)*	150 ul (1000 ul)*
Osocze	200 ul (1000 ul)*	150 ul (1000 ul)*
Pożywka znad hodowli komórkowej	200 ul (1000 ul)*	150 ul (1000 ul)*
Wymaz	wymazówka + PBS → 200 ul (1000 ul)*	wymazówka + PBS → 150 ul (1000 ul)*
Inne płyny ustrojowe pozbawione komórek	200 ul (1000 ul)*	150 ul (1000 ul)*
Krew pełna	100 ul + 100ul PBS	100 ul + 100ul PBS

Próbki o objętości mniejszej niż zalecana należy dopełnić przy pomocy PBS wolnego od RNaz do zalecanej objętości.
(*) Izolację można wykonać z próbek o objętości nawet do 1 ml, jednak w tym celu należy odpowiednio powiększyć stosowane objętości wszystkich buforów i reagentów stosowanych do etapu nałożenia na kolumnę (w zależności od protokołu – WL, WW, Carrier RNA, etanol).

Należy stosować wyłączenie wymazówki wykonane w całości z tworzywa sztucznego, z wacikiem ze sztucznego jedwabiu, wiskozy lub DARCON. Wymaz z błon śluzowych należy wykonać poprzez kilkukrotne stanowcze potarcie wymazówką powierzchni błony śluzowej. Wymazówkę należy umieścić w jej osłonce zawierającej niewielką ilość PBS lub podłoża wirusologicznego, odłamać/odciąć patyczek przy samej zakrętce i zamknąć. Tak przygotowany wymaz należy transportować w warunkach chłodniczych i przebadać w ciągu 24 godzin.

Zestawy Syngen Viral służą do jednoczesnej izolacji zarówno RNA wirusowego (np. wirusy HCV, HIV, grypa), jak i DNA wirusowego (np. wirusy CMV, HBV). Wyizolowany materiał genetyczny ma wysoki stopień czystości, dzięki czemu może być użyty bezpośrednio do dalszych analiz, jak reakcje enzymatyczne z detekcją w czasie rzeczywistym, mikromacierze i inne procedury wymagające DNA i RNA wysokiej jakości.

Ze względu na charakter materiału wyjściowego (duże rozcieńczenie) ilość wyizolowanego DNA/RNA wirusowego jest bardzo mała, co w zasadzie uniemożliwia pomiar stężenia przy pomocy spektrofotometru. Należy przy tym pamiętać, że w przypadku zastosowania Carrier RNA jego ilość wielokrotnie przekracza ilość wyizolowanego materiału genetycznego wirusa. Jeśli konieczne jest określenie stężenia izolatu, zalecamy stosowanie metod opartych o amplifikację w czasie rzeczywistym (real-time PCR).

Ogólne wytyczne dotyczące obsługi zestawów Syngen Viral

Kolumienki Mini pasują do większości probówek wirówkowych o pojemności 1.5 ml lub 2 ml (tzw. eppendorfek).

Wszystkie wirowania wykonywane są z prędkością 8000 x g, za wyjątkiem kroku dosuszania membrany, który wykonuje się z pełną prędkością (13.000 x g). Możliwe jest zastosowanie niższych prędkości (6000 x g), gdy użytkownik nie posiada szybszej wirówki lub przeszkadza mu hałas – w takim przypadku należy proporcjonalnie wydłużyć wirowanie. Zaleca się jednak, aby krok dosuszania membrany oraz elucja odbywały się przy najwyższych obrotach wirówki. Wszystkie wirowania należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej, chyba że w protokole zaznaczono inaczej.

Podczas obsługi zestawów Syngen zalecamy, aby ograniczać dotykanie membran w kolumienkach końcówką pipety, przed wirowaniem zamykać wieczka kolumienek i probówek, a z wirówki kolumienki wyjmować razem z probówkami – dopiero po ustawieniu w statywie można wyjąć kolumienkę z probówki. Ponadto, dla ograniczenia kontaminacji pomiędzy próbkami (cross-contamination), zalecamy aby utrzymywać w czystości rękawiczki ochronne, używać końcówek do pipet z filtrem i po każdym worteksowaniu lub mieszaniu zwirowywać probówki, aby usunąć krople ze spodu wieczek.

Pracując z retrowirusami stosuj ogólne zasady pracy z RNA. Przygotuj blat roboczy, oczyść go przy pomocy płynów degradujących RNazy,

usuń znad blatu wszystkie przedmioty, w tym kwiaty doniczkowe. Zwiąż włosy lub stosuj czepek ochronny. Nie nachylaj się na probówkami, stosuj gogle i maseczkę. Używaj wyłącznie odczynników i elementów zużywalnych (tipsy, próbówki) wolnych od RNaz. Używaj rękawiczek beztalkowych.

Elucja DNA

Typowa objętość elucji wynosi 50 ul i jest wystarczająca dla zdecydowanej większości próbek.

Elucję z kolumny należy wykonywać dostarczoną wodą wolną od RNaz. Ewentualnie można użyć własnej wody wolnej od RNaz o pH=7.5-9.0. Woda o innym pH może znacznie ograniczyć wydajność elucji lub nawet uniemożliwić ją. Zanieczyszczenie RNazami uniemożliwi analizę wirusów RNA (np. HCV, HIV, grypa).

Wyizolowany materiał genetyczny wirusa należy przechowywać w temperaturę od -70 do -86°C.

Kontrola wewnętrzna

Niektóre zestawy diagnostyczne w technice real-time PCR lub klasycznego PCR zawierają kontrolę wewnętrzną (IC, ang. Internal Control), służącą do sprawdzania poprawności każdej izolacji. Jeśli używany zestaw diagnostyczny wymaga stosowania takiej kontroli, należy dodać ją do izolacji w miejscu oznaczonym w protokole białą strzałką z literami „IC”. IC

Protokół 1
do zestawu Syngen Viral Mini

Izolacja wirusowych kwasów nukleinowych z próbek surowicy, osocza, płynów ustrojowych pozbawionych komórek, pożywki znad hodowli komórkowej, krwi pełnej.

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu Syngen Viral Mini Kit, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.

- Upewnij się, że przygotowałeś wszystkie potrzebne odczynniki i sprzęty opisane w rozdziale „Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem”.

- Upewnij się, że bufory płuczące i bufor wiążący zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem”.

- Jeżeli w którymś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 37°C przez kilka minut i mieszając.

- Doprowadź wszystkie bufory do temperatury pokojowej (15-25°C).

- Doprowadź próbki do temperatury pokojowej (15-25°C) i dokładnie je wymieszaj.

Procedura

1. Do eppendorfki (nie dostarczono) dodaj 200 ul próbki.
   Dodaj 500 ul buforu WL, zamknij i wymieszaj.
   Inkubuj w temperaturze pokojowej przez 10 minut.

IC

Jeśli stosujesz kontrolę wewnętrzną, dodaj ją z buforem WL.

Próbki o objętości mniejszej niż 200 ul dopełnij przy użyciu PBS wolnego od RNaz (nie dostarczono) i wymieszaj.

2. Dodaj 550 ul buforu WW, zamknij i natychmiast wymieszaj na worteksie.
   Zwiruj krótko probówki, aby usunąć krople z wieczka.

3. Umieść kolumienkę w probówce 2 ml do płukania.
   Przenieś 750 ul z probówki z kroku 2 na kolumienkę.
   Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z prędkością 8000 x g.
   Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

4. Przenieś resztę zawartości probówki z kroku 2 na kolumienkę.
   Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z prędkością 8000 x g.
   Przenieś kolumienkę do nowej probówki 2ml i wyrzuć przesącz razem ze starą probówką.

5. Otwórz kolumienkę, dodaj 500 ul buforu WP1.
   Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z prędkością 8000 x g.
   Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

6. Otwórz kolumienkę i dodaj 750 ul buforu WP2.
   Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z prędkością 8000 x g.
   Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

7. Otwórz kolumienkę i ponownie dodaj 750 ul buforu WP2.
   Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z prędkością 8000 x g.
   Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

8. Wiruj przez 3 minuty z maksymalną prędkością 13000 x g, aby wysuszyć membranę i pozbyć się z kolumienki resztek buforów zawierających etanol.

   Upewnij się, że w rogu kolumienki nie został żaden płyn.

9. Przenieś kolumienkę do probówki elucyjnej 1,5 ml i wyrzuć starą probówkę z resztkami buforu płuczącego.
   Otwórz kolumienkę. Ostrożnie, nie dotykając membrany, dodaj na sam środek membrany 50 ul dostarczonej wody wolnej od RNaz.
   Zamknij wieczko i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej, aż bufor wsiąknie w membranę.
   Wiruj przez 2 minuty z prędkością 8000 x g lub 13000 x g.

10. Ostrożnie wysuń kolumienkę i zamknij wieczko w probówce z wyizolowanym materiałem genetycznym wirusa.

    Wyizolowany DNA/RNA należy przechowywać w temperaturze od -70 do -86°C.

Protokół 2
do zestawu Syngen Viral Mini PLUS

Izolacja wirusowych kwasów nukleinowych z próbek surowicy, osocza, płynów ustrojowych pozbawionych komórek, pożywki znad hodowli komórkowej, krwi pełnej.

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu Syngen Viral Mini Kit PLUS, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.

- Upewnij się, że przygotowałeś wszystkie potrzebne odczynniki i sprzęty opisane w rozdziale „Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem”, w tym etanol 96-100%

- Upewnij się, że bufory płuczące i roztwór Carrier RNA w buforze lizującym zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem”.

- Jeżeli w którymś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 37°C przez kilka minut i mieszając.

- Doprowadź wszystkie bufory do temperatury pokojowej (15-25°C).

- Doprowadź próbki do temperatury pokojowej (15-25°C) i dokładnie je wymieszaj.

Procedura

1. Do eppendorfki (nie dostarczono) dodaj 150 ul próbki.
   Dodaj 570 ul buforu WL z Carrier RNA, zamknij i wymieszaj.
   Inkubuj w temperaturze pokojowej przez 10 minut.

IC

Jeśli stosujesz kontrolę wewnętrzną, dodaj ją z buforem WL.

Próbki o objętości mniejszej niż 150 ul dopełnij przy użyciu PBS wolnego od RNaz (nie dostarczono) i wymieszaj.

2. Dodaj 570 ul etanolu 96-100%, zamknij i wymieszaj na worteksie.
   Zwiruj krótko probówki, aby usunąć krople z wieczka.

3. Umieść kolumienkę w probówce 2 ml do płukania.
   Przenieś 700 ul z probówki z kroku 2 na kolumienkę.
   Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z prędkością 8000 x g.
   Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

4. Przenieś resztę zawartości probówki z kroku 2 na kolumienkę.
   Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z prędkością 8000 x g.
   Przenieś kolumienkę do nowej probówki 2ml i wyrzuć przesącz razem ze starą probówką.

5. Otwórz kolumienkę, dodaj 500 ul buforu WP1.
   Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z prędkością 8000 x g.
   Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

6. Otwórz kolumienkę i dodaj 750 ul buforu WP2.
   Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z prędkością 8000 x g.
   Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

7. Otwórz kolumienkę i ponownie dodaj 750 ul buforu WP2.
   Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z prędkością 8000 x g.
   Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

8. Wiruj przez 3 minuty z maksymalną prędkością 13000 x g, aby wysuszyć membranę i pozbyć się z kolumienki resztek buforów zawierających etanol.

   Upewnij się, że w rogu kolumienki nie został żaden płyn.

9. Przenieś kolumienkę do probówki elucyjnej 1,5 ml i wyrzuć starą probówkę z resztkami buforu płuczącego.
   Otwórz kolumienkę. Ostrożnie, nie dotykając membrany, dodaj na sam środek membrany 50 ul dostarczonej wody wolnej od RNaz.
   Zamknij wieczko i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej, aż bufor wsiąknie w membranę.
   Wiruj przez 2 minuty z prędkością 8000 x g lub 13000 x g.

10. Ostrożnie wysuń kolumienkę i zamknij wieczko w probówce z wyizolowanym materiałem genetycznym wirusa.

    Wyizolowany DNA/RNA należy przechowywać w temperaturze od -70 do -86°C.

Protokół 3

Izolacja wirusowych kwasów nukleinowych z wymazów

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu serii Syngen Viral, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.

- Zapoznaj się z rozdziałem wstępnym do protokołu 1 lub 2 – w zależności od używanego zestawu Syngen Viral Mini Kit lub Syngen Viral Mini Kit PLUS.

- Przygotuj PBS wolny od RNaz.

- Upewnij się, że wymazówka z patyczkiem odłamanym/odciętym na samej górze znajduje się w probówce ochronnej.

- Upewnij się, że wymaz był pobrany najwyżej 24 godziny przed izolacją i był transportowany pionowo.

Procedura

1. Jeśli płyn wokół wymazówki nie przekracza 200-300 ul dopełnij go do tej objętości przy użyciu PBS wolnego od RNaz.

2. Trzymając za patyczek wygnieć wacik wymazówki w płynie wewnątrz probówki ochronnej, a następnie odsącz go wygniatając o ściankę.

3. Jeśli płyn pozostały w probówce ochronnej nie jest homogenny, przelej go do eppendorfki (nie dostarczono) i wymieszaj pipetując.

   Tak przygotowaną próbkę stosuj do izolacji.

   Jeśli używasz zestawu **Syngen Viral Mini Kit**, przejdź do protokołu 1 – „Izolacja wirusowych kwasów nukleinowych z próbek surowicy, osocza, płynów ustrojowych pozbawionych komórek, pożywki znad hodowli komórkowej” i wykonaj go w całości.

   Jeśli używasz zestawu **Syngen Viral Mini Kit PLUS**, przejdź do protokołu 2 – „Izolacja wirusowych kwasów nukleinowych z próbek surowicy, osocza, płynów ustrojowych pozbawionych komórek, pożywki znad hodowli komórkowej” i wykonaj go w całości.

Samodzielne rozwiązywanie problemów

Mała lub zerowa wydajność izolacji RNA/DNA

Przyczyna	Rozwiązanie
Zastosowano zestaw bez Carrier RNA przy małej ilości lub słabej kondycji materiału w próbce	Powtórz izolację, użyj zestawu Syngen Viral Mini Kit PLUS
Nie dodano Carrier RNA do buforu WL lub niedostatecznie wymieszano (tylko zestaw z Carrier RNA)	Powtórz izolację, przygotuj prawidłowo roztwór Carrier RNA w buforze WL
Nie dodano etanolu do próbki przed nałożeniem na kolumnę lub zastosowano etanol o złym stężeniu (tylko zestaw bez Carrier RNA)	Powtórz izolację, nie pomijaj żadnego kroku, upewnij się, ze używasz etanolu minimum 96%
Nie dodano etanolu do buforów płuczących/wiążących przed pierwszym użyciem lub zastosowano etanol o złym stężeniu	Powtórz izolację, przygotuj prawidłowo bufory, upewnij się, ze używasz etanolu minimum 96%
Carrier RNA zdegradowany (tylko zestaw z Carrier RNA)	Powtórz izolację, użyj świeżego Carrier RNA i buforu WL
RNA zdegradowany z powodu zbyt długiego lub niewłaściwego przechowywania/transportowania próbki przed izolacją (tylko izolacja RNA)	Powtórz izolację, użyj świeżo pobranej i prawidłowo transportowanej próbki
RNA zdegradowany z powodu zanieczyszczonej wody użytej do elucji (tylko izolacja RNA)	Powtórz izolację, wykonaj elucję dostarczoną wodą wolną od RNaz lub świerzo otwarta wodą wolną od RNaz o pH 7.5-9.0
Niewydajna elucja wodą o za niskim pH (niższe niż 7.5-9.0)	Wykonaj elucję ponownie dostarczoną wodą wolną od RNaz lub świerzo otwarta wodą wolną od RNaz o pH 7.5-9.0
Niewydajna elucja – woda nie wsiąkła w membranę	Powtórz elucję - upewnij się, że nanosisz wodę na sam środek membrany - pozwól wodzie wsiąknąć w membranę - inkubuj przed wirowaniem
Niewydajna elucja w powodu przedziurawienia membrany	Powtórz izolację

Słabe wyniki reakcji PCR, real-time PCR

Przyczyna	Rozwiązanie
Mała wydajność izolacji	Przeczytaj poprzedni akapit
Eluat wielokrotnie rozmrażany i zamrażany	Wielokrotne rozmrażanie i zamrażanie materiału genetycznego wirusa powoduje jego nieodwracalną degradację. Powtórz izolację ze świeżej próbki.
Niska zawartość wirusa w próbce, złe przechowywanie	Powtórz izolację ze świeżej próbki.
Niska czułość reakcji	Użyj do reakcji maksymalną możliwą objętość eluatu (np. objętość będącą sumą zalecanej ilości próbki i wody w miksie reakcyjnym)
Inhibicja reakcji z powodu zanieczyszczenia etanolem	Powtórz izolację, zwróć uwagę na etap suszenia kolumny przy 13000 x g

Różne objętości eluatu przy tej samej objętości wody użytej do elucji

Przyczyna	Rozwiązanie
Normalne zjawisko spowodowane różnymi próbkami	Nie ma potrzeby

Kolumienka zatkała się

Przyczyna	Rozwiązanie
Precypitaty w osoczu lub surowicy spowodowane wielokrotnym zamrażaniem	- Powtórz izolację ze świeżej próbki, która nie była zamrażana więcej niż 1 raz. - Powtórz izolację z tej samej próbki, którą wcześniej oczyść z precypitatów przez odwirowanie.

facebook.com/SyngenBiotech

Syngen Biotech Sp. z o.o. Sp. k.
54-116 Wrocław, ul. Ostródzka 13
kolumienki.pl, syngen.pl, info@syngen.pl
tel. +48 71 349 70 13, +48 349 91 66, +48 71 349 91 67, faks +48 71 349 70 33