

User Manual

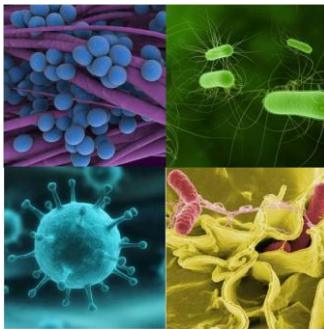
SureFast[®] PREP DNA/RNA Virus

Art. No. F1051

100 extractions

Efficient DNA/RNA preparation of virus

Version 3.1 - 2015/10



CONGEN 

Inhaltsverzeichnis 

Beschreibung	2
Prinzip	3
Kit-Inhalt, Lagerung und Haltbarkeit	3
Zusätzlich benötigte Geräte und Materialien.....	3
Vorbereitungen	3
Allgemein	3
Vor jeder Präparation	3
Extraktionsprotokoll	3
1. Vorbereitung des Ausgangsmaterials	3
2. Lyse des Ausgangsmaterials	4
3. Einstellen optimaler Bindungsbedingungen	4
4. Bindung der Nucleinsäuren an einen Spin Filter	4
5. Aufreinigung der gebundenen Nucleinsäuren	4
6. Trocknen des Spin Filters	4
7. Elution der Nucleinsäuren vom Spin Filter	4
Technischer Support	5
Gefahrenhinweise	5

Table of contents 

Description.....	6
Principle.....	6
Kit components, storage and stability.....	6
Additionally required equipment and materials	6
Preparations.....	6
General	6
Before each preparation.....	6
Extraction protocol	6
1. Preparation of the basic material	6
2. Lysis of the basic material	7
3. Setting of optimal binding conditions.....	7
4. Binding of the nucleic acids on a Spin Filter	7
5. Purification of the bound nucleic acids	7
6. Drying of the Spin Filter	7
7. Elution of nucleic acids from the Spin Filter	7
Technical Support.....	8
Safety information	8

Beschreibung

Dieses Kit dient der Extraktion von viraler DNA und RNA aus Serum, Urin, Plasma, Zellkultur-Überständen, Lebensmitteln (z.B. Abspülflüssigkeiten von Früchten, Salaten etc.), Filtern von Wasserproben sowie Stuhlproben und Abstrichproben (z.B. von Arbeitsflächen etc.).

Prinzip

1. Vorbereitung des Ausgangsmaterials
2. Lyse bei 65°C und 95°C
3. Einstellen optimaler Bindungsbedingungen
4. Bindung der Nucleinsäuren an einen Spin Filter
5. Aufreinigung der gebundenen Nucleinsäuren
6. Trocknen des Spin Filters
7. Elution der Nucleinsäuren vom Spin Filter

Kit-Inhalt (je Box), Lagerung und Haltbarkeit

1x Binding Buffer (30 ml)	(Code B)	1x Extraction Tubes	(Code ET)
1x Elution Buffer (5 ml)	(Code E)	1x Receiver Tubes 2,0 ml, clear (50 x)	(Code R)
1x Pre-Wash Buffer (40 ml)*	(Code P)	1x Receiver Tubes 1,5 ml, clear (50 x)	(Code T)
1x Wash Buffer (60 ml)*	(Code W)	1x Spin Filter Set (50 x)	(Code S)

* Nach Zugabe von mindestens 96%igem Ethanol (nicht im Kit enthalten)

Alle Bestandteile des Kits sollten bei Raumtemperatur (14-25°C) gelagert werden. Nach dem Öffnen verringert sich die Haltbarkeit des Kits auf 12 Monate.

Zusätzlich benötigte Geräte und Materialien

- Mikrozentrifuge
- Thermomixer/Heizblock (bis 100°C)
- Pipetten und Pipettenspitzen mit Filtern
- Reaktionsgefäße 1,5 ml
- Ethanol (≥ 96 %)
- RNase freies PCR grade H₂O

Vorbereitungen

Allgemein

- Auffüllen des Pre-Wash Buffers **(Code P)** durch Zugabe von 20 ml Ethanol und mischen.
- Auffüllen des Wash Buffers **(Code W)** durch Zugabe von 48 ml Ethanol und mischen.

Vor jeder Präparation

- Vorwärmen des Elution Buffers **(Code E)** - Überführen der benötigten Menge unter Einrechnung einer Reservemenge an Elution Buffer in ein Reaktionsgefäß (nicht im Kit enthalten). Inkubation bei 65°C (der Elution Buffer wird in Schritt 7 benötigt).

Extraktionsprotokoll

1. Vorbereitung des Ausgangsmaterials

Bei Flüssigkeiten werden 200 µl Probe mit 200 µl RNase freiem PCR grade H₂O in einem Reaktionsgefäß (nicht im Kit enthalten) vermischt. Bei geringerem Probenvolumina bitte auf 400 µl mit RNase freiem PCR grade H₂O auffüllen.

Bei Proben mit einer geringen Nucleinsäure Ausbeute können auch 400 µl Probe direkt eingesetzt werden. Die komplette Probe dann in ein Extraction Tube **(Code ET)** überführen.

Stuhlproben werden 10-20fach in RNase freiem PCR grade H₂O verdünnt (für geringere Viskosität). Diese Verdünnung wird bei maximaler Geschwindigkeit für 2 min zentrifugiert. 200 µl des Überstandes werden mit 200 µl RNase freiem PCR grade H₂O gemixt und in ein Extraction Tube (**Code ET**) überführt.

Abstriche (auf einem Tupfer) und Filter werden komplett in ein Extraction Tube (**Code ET**) gegeben (bei Tupfern den Schaft abschneiden, damit der Deckel des Tubes geschlossen werden kann). Danach erfolgt die Zugabe von 400 µl RNase freiem PCR grade H₂O.

Hinweis:

Nach der Lyse den Tupfer vorsichtig an der Wand des Tubes ausdrücken und verwerfen.

2. Lyse des Ausgangsmaterials

Überführen der Extraktion Tubes in einen Thermomixer und Inkubation bei 65°C für 15 min und anschließend bei 95°C für 10 min unter kontinuierlichem Schütteln.

3. Einstellen optimaler Bindungsbedingungen

Bei Flüssigkeiten ohne Partikel in der Lösung werden nach der Lyse 400 µl Binding Buffer (**Code B**) zugegeben und auf dem Vortex gut durchmischt.

Hinweis:

Wenn Partikel nach der Lyse im Extraction Tube zu erkennen sind, wird die Probe bei maximaler Geschwindigkeit für 1 min zentrifugiert und der komplette Überstand in ein neues Reaktionsgefäß (nicht im Kit enthalten) überführt. Zu dieser Probe werden dann die 400 µl Binding Buffer (**Code B**) gegeben und auf dem Vortex gut durchmischt.

4. Bindung der Nucleinsäuren an einen Spin Filter

Komplette Probe in ein Spin Filter Set (**Code S**) überführen, den Deckel des Spin Filter Sets schließen und für 1 min bei 12.000 rpm zentrifugieren.

Anschließend den Spin Filter in ein neues 2,0 ml Receiver Tube (**Code R**) einsetzen.

5. Aufreinigung der gebundenen Nucleinsäuren

500 µl Pre-Wash Buffer (**Code P**) auf den Spin Filter geben. Zentrifugation für 1 min bei 10.000 rpm. Filtrat verwerfen und den Spin Filter wieder in das Receiver Tube einsetzen.

700 µl Wash Buffer (**Code W**) auf den Spin Filter geben. Zentrifugation für 1 min bei 10.000 rpm. Filtrat verwerfen und den Spin Filter wieder in das Receiver Tube einsetzen.

6. Trocknen des Spin Filters

Zentrifugation für 4 min bei maximaler Geschwindigkeit, um restliches Ethanol von dem Spin Filter zu entfernen.

7. Elution der Nucleinsäuren vom Spin Filter

Den Spin Filter in ein klares 1,5 ml Receiver Tube (**Code T**) einsetzen und 60 µl des auf 65 °C erwärmten Elution Buffers (**Code E**) auf den Spin Filter pipettieren.

Inkubation für 3 min und anschließende Zentrifugation für 1 min bei 10.000 rpm. Den Spin Filter anschließend verwerfen.

Die eluierten Nucleinsäuren können direkt in die PCR oder RT-PCR eingesetzt werden. Die Nucleinsäuren bei -20°C oder -80°C aufbewahren.

Hinweis:

Die Nucleinsäuren können auch mit einem niedrigeren Volumen (aber nicht weniger als 40 µl) oder mit einem höheren Volumen des Elution Buffers eluiert werden (hängt von der erwarteten oder benötigten Menge an Nucleinsäuren ab).

Weitere Informationen

- Material Safety Data Sheet
- Fließschema
(Download: <http://www.congen.de/unternehmen/download>)

Technischer Support

Fragen zur Durchführung bitte per E-Mail an info@congen.de.

Gefahrenhinweise

Binding Buffer



Gefahr

H225-319-336
P210-233-(305-351-338)

Pre-Wash Buffer



Achtung

H302-312-332-412 EUH032
P273-(304+340)

Extraction Tubes



Achtung

H302-315-319-335-411 P260-
262-(305+351+338)-310
EUH208

- H225:** Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H302: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
H312: Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt.
H315: Verursacht Hautreizungen.
H319: Verursacht schwere Augenreizung.
H332: Gesundheitsschädlich bei Einatmen.
H335: Kann die Atemwege reizen.
H336: Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
H411: Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung
H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
EUH208: Enthält Proteinase K. Kann allergische Reaktion hervorrufen.
P210: Von Hitze / Funken / offener Flamme / heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen.
P233: Behälter dicht verschlossen halten.
P260: Staub / Rauch / Gas / Nebel / Dampf / Aerosol vermeiden
P262: Nicht in die Augen, auf die Haut oder auf die Kleidung gelangen lassen
P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P304+340: Beim Einatmen: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
P310: Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen: Einige minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.

Für weitere Informationen stellen wir auf Anfrage ein Sicherheitsdatenblatt zur Verfügung. Bitte wenden Sie sich an Ihren Distributor oder per E-Mail an info@congen.de.

Description

The kit is intended to be used for the isolation of DNA and RNA viruses nucleic acids from serum, urine, plasma, cell culture supernatants, foods (for example wash up fluids from fruits, salads etc.), filters from water samples as well as stool samples and swabs (for example from work surfaces etc.).

Principle

1. Preparation of the basic material
2. Lysis at 65°C and 95°C
3. Setting of optimal binding conditions
4. Binding of the nucleic acids on a Spin Filter
5. Purification of the bound nucleic acids
6. Drying of the Spin Filter
7. Elution of nucleic acids from the Spin Filter

Kit components (per box) and storage

1x Binding Buffer (30 ml)	(Code B)	1x Extraction Tubes	(Code ET)
1x Elution Buffer (5 ml)	(Code E)	1x Receiver Tubes 2.0 ml, clear (50 x)	(Code R)
1x Pre-Wash Buffer (40 ml)*	(Code P)	1x Receiver Tubes 1.5 ml, clear (50 x)	(Code T)
1x Wash Buffer (60 ml)*	(Code W)	1x Spin Filter Set (50 x)	(Code S)

* After adding ethanol (purity \geq 96 %; not supplied with the kit)

All reagents of the kit should be stored dry and at room temperature (14-25°C). After opening the stability of the kit is reduced to 12 months.

Additionally required equipment and materials

- Microcentrifuge
- Thermomixer/heating block (to 100°C)
- Pipettes with filter tips
- Reaction tubes 1.5 ml
- Ethanol (\geq 96 %)
- RNase free PCR grade H₂O

Preparations**General**

- Add 20 ml ethanol to the Pre-Wash Buffer **(Code P)** and mix thoroughly.
- Add 48 ml ethanol to the Wash Buffer **(Code W)** and mix thoroughly.

Before each preparation

- Preheating the Elution Buffer **(Code E)** - Transfer the needed amount under calculation of a reserve volume of Elution Buffer **(Code E)** into a reaction tube (not provided with the kit) and equilibrate to 65°C (the Elution Buffer is necessary for step 7).

Extraction protocol**1. Preparation of the basic material**

Mix 200 μ l samples/fluids with 200 μ l RNase free PCR grade H₂O in a reaction tube (not supplied with the kit). For samples which have a smaller volume than 200 μ l please fill up to a total volume of 400 μ l with RNase free PCR grade H₂O. By small yields of nucleic acids use directly 400 μ l sample fluid.

Transfer the complete sample in an Extraction Tube **(Code ET)**.

Dilute stool samples x10-20 in RNase free PCR grade H₂O (for a lower viscosity). Centrifuge the dilution for 2 min at maximum speed. Mix 200 µl supernatant with 200 µl RNase free PCR grade H₂O. Transfer the complete sample in an Extraction Tube (**Code ET**).

Place swabs and filters complete in the Extraction Tube (**Code ET**) (Cut off the shaft of the swab, so that the cap of the extraction tube can be closed). Add 400 µl RNase free PCR grade H₂O.

Note:

After lysis time carefully squeeze out the swab on the wall of the tube and discard the swab.

2. Lysis of the basic material

Place the Extraction Tubes into a Thermomixer and incubate under continuously shaking for 15 minutes at 65°C and for 10 minutes at 95°C.

3. Setting of optimal binding conditions

Add directly 400 µl Binding Buffer (**Code B**) to fluids without particles and mix the sample by vortexing.

Note:

Does the sample lysate show particles it has to be centrifuged for 1 min at maximum speed. The liquid supernatant has to be transferred into a new reaction tube (not supplied with the kit). Add 400 µl Binding Buffer (**Code B**) to the supernatant and mix the sample by vortexing.

4. Binding of the nucleic acids on a Spin Filter

Transfer the complete sample in a Spin Filter Set (**Code S**). Close the cap and centrifuge for 1 minute at 12.000 rpm. Discard the Receiver Tube with the filtrate and place the Spin Filter in a new 2.0 ml Receiver Tube (**Code R**).

5. Purification of the bound nucleic acids

Add 500 µl Pre-Wash Buffer (**Code P**) to the Spin Filter and centrifuge at 1 min for 10.000 rpm. Discard the filtrate and place the Spin Filter back into the Receiver Tube.

Add 700 µl Wash Buffer (**Code W**) to the Spin Filter and centrifuge at 1 min for 10.000 rpm. Discard the filtrate and place the Spin Filter back into the Receiver Tube.

6. Drying of the Spin Filter

Remove the residual ethanol by final centrifugation for 4 min at maximum speed.

7. Elution of nucleic acids from the Spin Filter

Place the Spin Filter into a clear 1.5 ml Receiver Tube (**Code T**) and add 60 µl of the preheated to 65°C Elution Buffer (**Code E**) directly onto the Spin Filter.

Incubate for 3 min and centrifuge for 1 min at 10.000 rpm. After centrifugation discard the Spin Filter.

The eluted nucleic acid is ready-to-use for the PCR or RT-PCR. Store the nucleic acids at -20°C or -80°C.

Note:

The nucleic acids can also be eluted with a lower (but not lower than 40 µl) or a higher volume of Elution Buffer (depends on the expected yield or needed concentration of the nucleic acids).

Product Information

- Material Safety Data Sheet
- Flow chart
(Download: <http://www.congen.de/en/company/download>)

Technical Support

For further questions please send an e-mail to info@congen.de.

Safety information

Binding Buffer



Danger

H225-319-336 P210-233-(305-351-338)

Pre-Wash Buffer



Warning

H302-312-332-412 EUH032 P273-(304+340)

Extraction Tubes



Warning

H302-315-319-335-411 P260-262-(305+351+338)-310 EUH208

H225:	Highly flammable liquid and vapour.
H319:	Causes serious eye irritation.
H302:	Harmful if swallowed.
H312:	Harmful in contact with skin.
H315:	Causes skin irritation.
H319:	Causes serious eye irritation.
H332:	Harmful if inhaled.
H335:	May cause respiratory irritation.
H336:	May cause drowsiness or dizziness.
H411:	Toxic to aquatic life with strong lasting effects
H412:	Harmful to aquatic life with long lasting effects.
EUH032:	Contact with acids liberates very toxic gas.
EUH208:	Contains Proteinase K. May produce an allergic reaction.
P210:	Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
P233:	Keep container tightly closed.
P260:	Do not breathe dust / fume / gas / mist / vapours / spray.
P262:	Do not get in eyes, on skin, or on clothing.
P273:	Avoid release to the environment.
P304+340:	IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing.
P305+P351+P338:	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information we offer a Material Safety Data Sheet. Please contact your distributor or send an e-mail to info@congen.de.