

**Manuaalisen  
puhdistusohjelman käsikirja  
tuotteelle**

**prepiT™•L2P**

**DNagenotek™**

**[www.dnagenotek.com](http://www.dnagenotek.com)**

Puh.: +1 613 723 5757  
[support@dnagenotek.com](mailto:support@dnagenotek.com)  
[sales@dnagenotek.com](mailto:sales@dnagenotek.com)

3000 - 500 Palladium Drive  
Ottawa, ON, Kanada K2V 1C2

*Erinomaiset näytteet  
Todistettu teho*



## Sisällysluettelo

|  |    |
|--|----|
| Käyttötarkoitus .....  | 4  |
| Käytön aikainen stabiliteetti .....  | 4  |
| Ominaisuudet .....   | 4  |
| Materiaalit .....  | 4  |
| Varoitukset ja varotoimet .....  | 4  |
| Tuotteen käyttörajoitukset .....   | 5  |
| preIT•L2P-tuotteen kuljetus .....  | 5  |
| preIT•L2P-tuotteen säilytys (säilyvyysaika) .....                          | 5  |
| Hävittäminen .....   | 5  |
| Huolto/korjaukset .....  | 5  |
| Tiivistelmä suorituskykyominaisuuksista .....                              | 5  |
| Tuotetyypit .....  | 5  |
| Takuut .....   | 6  |
| Vianmääritys .....   | 6  |
| <b>preIT•L2P-laboratorio-ohjelma DNA:n<br/>manuaaliseen puhdistukseen:</b> |    |
| 500 mikrolitrasta näytettä .....   | 7  |
| koko näytteestä .....  | 11 |
| DNA:n kvantifiointi .....  | 18 |

preIT™•L2P-ohjelma on saatavilla muilla kielillä osoitteessa  
[www.dnagenotek.com](http://www.dnagenotek.com)


### Teknistä tukea on saatavilla maanantaista perjantaihin (9.00–17.00 ET):

- Ilmaisinumero (Pohjois-Amerikka): 1 866 813 6354, valinta 6
- Muut maat: +1 613 723 5757, valinta 6
- Sähköposti: [support@dnagenotek.com](mailto:support@dnagenotek.com)

■ DNA Genotek Inc.  
3000 - 500 Palladium Drive  
Ottawa, ON, Kanada K2V 1C2  
Sähköposti: [support@dnagenotek.com](mailto:support@dnagenotek.com)

Yhdistyneen kuningaskunnan vastuuhenkilö: Emergo Consulting (Yhdistynyt kuningaskunta)  
Limited c/o Cr360 - UL International, Compass House, Vision Park Histon, Cambridge, CB24 9BZ

■  Novosanis NV, Bijkhoevelaan 32c,  
2110 Wijnegem, Belgia  
Sähköposti: [EUAR@novosanis.com](mailto:EUAR@novosanis.com)

■  Arazy Group Swiss GmbH, Bruderholzallee 53, 4059 Basel, Sveitsi  
Sähköposti: [swiss.ar@arazygroup.com](mailto:swiss.ar@arazygroup.com)

Australialainen sponsori: Emergo Australia, Level 20, Tower II, Darling Park, 201 Sussex Street,  
Sydney, NSW 2000 Australia

## Käyttötarkoitus

Oragene™- ja ORAcollect™- syljen näytteenottosarjoilla otetun genomisen DNA:n puhdistukseen.

## Käytön aikainen stabiliteetti

PT-L2P-5 (5 ml)- ja PT-L2P-45 (45 ml)- tuotteiden käytön aikainen stabiliteetti on 30 huoneenlämmössä.

## Ominaisuudet

- Optimoitu kemia mahdollisimman kattavaan DNA:n keräämiseen Oragene- ja ORAcollect-tuoteperehden suunäytteistä.
- Todettu tuottavan johdonmukaisia tuloksia korkean molekyylipainon DNA:lla.
- Skaalautuva puhdistusmenetelmä suurille tai pienille näytetilavuuksille.
- Sujuva työnkulku ja täysi tekninen tuki näytteenotosta eristämiseen.
- Taloudellinen menetelmä, joka vaatii vain vähän laitteistoa.

## Materiaalit

- PT-L2P-5 (5 ml) ja/tai PT-L2P-45 (45 ml)
- prepIT•L2P-tuotekäsikirja

## Varoitukset ja varoimet

- Vain laboratorioskäyttöön.
- Nestemäistä reagenssia EI saa niellä.
- ÄLÄ käytä, jos pakkaus on vaurioitunut tai suppilon kannen/korkin tiiviste on rikki tai vuotaa.
- ÄLÄ käytä prepIT•L2P-tuotetta reagenssipulloon merkityn viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Pese vedellä, jos reagenssia joutuu silmiin tai iholle. EI saa niellä.
- Ilmoita kaikista vakavista tapauksista DNA Genotekille ja maasi toimivaltaiselle viranomaiselle.
- Katso ohjeet käyttämättömän reagenssin turvalliseen hävittämiseen käyttöturvallisuustiedotteesta (MSDS).
- Käyttöturvallisuustiedote on saatavilla osoitteessa [www.dnagenotek.com](http://www.dnagenotek.com).

## Tuotteen käyttörajoitukset

Käytä prepIT•L2P-tuotetta ainoastaan tämän tuotekäsikirjan ohjeiden mukaisesti.

## prepIT•L2P-tuotteen kuljetus

prepIT•L2P-tuotetta voi kuljettaa huoneenlämpötilassa laboratorioreagenssina. Erityiskäsittelyä ei tarvita.

## prepIT•L2P-tuotteen säilytys (säilyvyysaika)

Säilytä huoneenlämpötilassa. PT-L2P-5 (5ml)- ja PT-L2P-45 (45 ml) -tuotteiden säilyvyysaika on 30 kuukautta huoneenlämpötilassa, kun ne on suljettu asianmukaisesti.

## Hävittäminen

Hävitä käyttämättömät, vaurioituneet tai vuotavat sarjat asianmukaisten paikallisten, osavaltion ja valtiotason säännösten mukaisesti. Hävitä laboratoriojätteenä.

## Huolto/korjaukset

Ei sovelleta. prepIT•L2P on reagenssi, eikä edellytä huoltoa tai korjausta.

## Tiivistelmä suorituskyvyominaisuuksista

Oragene- ja ORAcollect- syljen näytteenottosarjoilla otettu prepIT•L2P-puhdistettu genominen DNA tuottaa runsaasti korkealaatuaista DNA:ta, joka riittää myöhempiin sovelluksiin, kuten PCR-analyysiin, mikrosiruanalyysiin ja massiiviparalleelisekvensointiin.

## Tuotetyypit

prepIT•L2P-tuotetta on saatavilla useita eri tilavuuksia riippuen tarvittavasta valmisteen lukumäärästä. Esimerkiksi:

| Tuotteen viitenumero / Luettelonumero | Näytevalmisteiden tilavuus | Valmisteiden lukumäärä |
|---------------------------------------|----------------------------|------------------------|
| PT-L2P-5                              | 0,5 ml                     | 200                    |
| PT-L2P-45                             | 0,5 ml                     | 2 000                  |

## Takuut

Kaikkien DNA Genotek -tuotteiden ehdot ovat saatavilla kokonaisuudessaan osoitteessa <http://www.dnagenotek.com/ROW/terms/index.html>.

## Vianmääritys

Ota yhteys DNA Genotek -yhtiön tekniseen tukeen osoitteessa [support@dnagenotek.com](mailto:support@dnagenotek.com) tai soita numeroon +1 (613) 723-5757, valinta 6.

# prepIT™•L2P-laboratorio-ohjelma DNA:n manuaaliseen puhdistukseen 500 mikrolitrasta näytettä

Seuraavassa vaiheittaisessa ohjelmassa kuvaillaan, miten voit puhdistaa DNA:n 500 mikrolitran osanäytteestä.

## Pakkauksen reagenssit

prepIT•L2P (luettelonro PT-L2P-5 tai PT-L2P-45)

## Laitteisto ja reagenssit

- Mikrosentrifugi, joka voi pyöriä voimalla 15 000 × g
- 1,5 ml:n mikroputkia (esim. Axygen®, luettelonro MCT-150-C)
- 50°C:n lämpöinen ilma- tai vesi-inkubaattori
- Huoneenlämpöistä etanolia (95–100 %)
- Huoneenlämpöistä etanolia (70 %)
- DNA:n säilytyspuskuria: TE (10 mm Tris-HCl, 1 mm EDTA, pH 8,0) tai vastaavaa liuosta

## Toimenpide

| Puhdistusvaiheet  | Huomiot  |
|---|--|
| 1. Sekoita Oragene-/ORACollect-näyte kääntelemällä putkea ylösalaisin tai ravistamalla sitä hellävaroen muutamaman sekunnin ajan. | • Näin varmistat, että viskoosiset näytteet sekoittuvat hyvin. |

| Puhdistusvaiheet  | Huomiot   |
|---|---|
| 2. Inkuboi näytettä 50°C:n lämpötilassa vesi-inkubaattorissa vähintään 1 tunti tai ilmainkubaattorissa vähintään 2 tuntia.      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tämä lämpökäsittelyvaihe on erittäin tärkeä ja varmistaa, että DNA:ta vapautuu riittävästi ja että nukleaaasi inaktivoituvat pysyvästi.</li> <li>Voit tehdä tämän inkubaatiovaiheen milloin tahansa näytteen ottamisen ja sen puhdistuksen välillä.</li> <li>Varmista näytteen homogeenisuus inkuboimalla koko näytettä alkuperäisessä näyteputkessa ennen osanäytteen ottoa.</li> <li>Voit inkuboida näytettä 50°C:n lämpötilassa yön yli, jos se on kätevämpää.</li> <li>Ilmainkubaattori edellyttää pidemmän ajan, koska se saavuttaa lämpötasapainon vesi-inkubaattoria hitaammin.</li> </ul> <p><b>Huomio:</b> Voi olla parempi käyttää ilmainkubaattoria, koska Oragene./ORACollect-putket saattavat kellua vesikylvyssä. Jos sinun on käytettävä vesikylpyä, varmista, että putken näytettä sisältävä osa pysyy veden alla.</p> |
| 3. Siirrä 500 mikrolitraa sekoitettua näytettä 1,5 ml:n mikrosentrifugiputkeen.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Voit säilyttää loput näytteestä huoneenlämpötilassa (15–25°C) tai jäädytettynä.</li> <li>Halutessasi voit säilyttää näytteen jäädytettynä Oragene-/ORACollect-putkessa -20°C:n lämpötilassa tai siirtää näytteen kryoputkeen pitkäaikaista säilytystä varten -80°C:n lämpötilassa.</li> </ul>  |
| 4. Lisää 20 mikrolitraa (1/25 tilavuudesta) prepIT-L2P-tuotetta mikrosentrifugiputkeen ja sekoita ravistelemalla sekunnin ajan. | <ul style="list-style-type: none"> <li>Näyte muuttuu sameaksi, kun epäpuhtaudet ja estäjät saostuvat.</li> </ul>  |
| 5. Inkuboi jäässä 10 minuuttia.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Voit inkuboida näytettä myös huoneenlämmössä, mutta silloin epäpuhtauksia poistuu hieman vähemmän tehokkaasti.</li> </ul>  |

| Puhdistusvaiheet   | Huomiot   |
|--|---|
| 6. Sentrifugoi 5 minuuttia huoneenlämmössä voimalla 15 000 × g.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Pidempi sentrifugointi (korkeintaan 15 minuuttia) voi vähentää lopullisen DNA-liuoksen sameutta (korkea A<sub>320</sub>).</li> </ul>   |
| 7. Siirrä puhdas supernatantti varovasti pipettikärjellä uuteen mikrosentrifugiputkeen. <b>Hävität epäpuhtauksia sisältävä pelletti.</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Pelletti sisältää samaita epäpuhtauksia. Jos kosket putkeen epähuomiossa, sentrifugoi se uudelleen.</li> </ul>   |
| 8. Lisää 600 mikrolitraa huoneenlämpöistä 95–100 % etanolia. Sekoita hellävaroen kääntelemällä putki ylösalaisin 10 kertaa.              | <ul style="list-style-type: none"> <li>DNA saostuu, kun sekoitat sen etanoliin. Tämä saattaa näkyä DNA-säikeiden hyytymänä tai hienona saostumana riippuen DNA:n määrästä näytteessä.</li> <li>Vaikka et näkisi hyytymää, voit kerätä DNA:n noudattamalla huolellisesti seuraavia vaiheita.</li> </ul>  |
| 9. Anna näytteen olla huoneenlämmössä 10 minuuttia, jotta DNA saostuu kokonaan.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Emme suosittele ikubointia -20°C:n lämpötilassa, koska epäpuhtaudet saattavat saostua DNA:han.</li> </ul>  |
| 10. Aseta putki mikrosentrifugiin tietyyn asentoon. Sentrifugoi 2 minuuttia huoneenlämmössä voimalla 15 000 × g.                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>Voit esimerkiksi asettaa jokaisen putken mikrosentrifugiin niin, että korkin saranaosuus osoittaa pois päin roottorin keskustasta. Näin tiedät pelletin sijainnin sentrifugoinnin jälkeen (vaikka se olisi liian pieni nähtäväksi) – se on putken kärjessä saranan alapuolella.</li> </ul>   |
| 11. Poista supernatantti varovasti pipettikärjellä ja hävitä se. Varo koskemasta DNA-pellettiin.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Pelletti sisältää DNA:ta. Jos menetät pelletin, menetät myös DNA:n.</li> <li>Jos kierrät putkea niin, että pelletti on seinämän yläosassa, voit viedä pipettikärjen turvallisesti seinämän alaosaan putken ja poistaa kaiken supernatanttiin.</li> <li>Supernatantti saattaa sisältää epäpuhtauksia, ja se on poistettava mahdollisimman täydellisesti.</li> </ul> |

| Puhdistusvaiheet  | Huomiot   |
|---|---|
| 12. Etanolihuuhdtelu:<br>Lisää varovasti 250 mikrolitraa 70 % etanolia. Anna olla huoneenlämmössä 1 minuutin ajan. <b>Poista kaikki etanoli koskematta pellettiin.</b>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• On tärkeää poistaa kaikki etanoli näytteestä. Näytteeseen jäänyt etanoli voi vaikuttaa määrityksen suorituskykyyn.</li> <li>• Kun olet poistanut 70 % etanolin, voit poistaa näytteeseen jääneen etanolin pyörittämällä putkea pulssitoiminnolla.</li> <li>• Varo koskemasta DNA-pellettiin – se voi olla pieni tai näkymätön.</li> <li>• Jos pelletti irtoaa, sentrifugoi näytettä 5 minuuttia voimalla 15,000 × g.</li> <li>• Jos pelletti kuivuu liikaa, DNA:n liukeneminen voi vaikeutua.</li> </ul> |
| 13. Liuota DNA-pelletti lisäämällä 100 mikrolitraa TE-liuosta (ks. sivu 5). Ravistele vähintään 5 sekuntia.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Jos haluat korkeamman DNA-pitoisuuden, käytä 50 mikrolitraa TE-liuosta.</li> </ul>   |
| 14. Varmista DNA:n täydellinen rehydraatio inkuboimalla huoneenlämmössä yön yli ja sitten ravistelemalla tai inkuboimalla 50°C:n lämpötilassa 1 tunti ja ravistelemalla toisinaan.                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Suuren korkean molekyylipainoin DNA-määrän täydellinen rehydraatio (liukeneminen) voi olla hidasta.</li> <li>• Riittämätön DNA:n rehydraatio aiheuttaa epätarkkuutta DNA-pitoisuuden arvioinnissa ja saattaa aiheuttaa häiriöitä myöhemmissä sovelluksissa, kuten PCR-analyyseissä.</li> </ul>   |
| 15. Täydellisesti rehydraatoidun DNA:n säilytysvaihtoehtoja:<br>a) Pitkäaikainen säilyttäminen TE:ssä -20°C:n lämpötilassa. Jaa halutessasi osanäytteiksi.<br>b) Korkeintaan 2 kuukautta TE:ssä 4°C:n lämpötilassa. |   |

## prepIT•L2P-laboratorio-ohjelma DNA:n manuaaliseen puhdistukseen koko näytteestä

**Huomio:** Käytä tässä ohjelmassa parhaan tuloksen saadaksesi sellaista sentrifugia (joko kiinteä kiertokulma tai heiluva kauharoottori), joka pystyy tuottamaan vähintään voiman 3 500 × g.

Seuraavassa vaiheittaisessa ohjelmassa kuvaillaan, miten voit puhdistaa DNA:n koko näytteestä (näytteen kokonaistilavuus 1–4 ml). Mukauta mainitut tilavuudet vastaamaan todellista kerättyä tilavuutta.

### Pakkauksen reagenssit

prepIT•L2P (luettelono PT-L2P-5 tai PT-L2P-45)

### Laitteisto ja reagenssit

- Sentrifugi, joka käyttää 15 ml:n putkia ja tuottaa vähintään voiman 3 500 × g (ks. Taulukko 2)
- 15 ml:n kartiomaisia polypropeeniputkia (esim. BD Falcon®, luettelono 352196)
- Mikrosentrifugi, joka voi pyöriä voimalla 15 000 × g (valinnainen)
- 1,5 ml:n mikroputkia (esim. Axygen®, luettelono MCT-150-C)
- 50°C:n lämpöinen ilma- tai vesivainkubaattori
- Huoneenlämpöistä etanolia (95–100 %)
- Huoneenlämpöistä etanolia (70 %)
- DNA:n säilytyspuskuria: TE (10 mm Tris-HCl, 1 mm EDTA, pH 8,0) tai vastaavaa liuosta

**Valinnainen: puhdistusta edeltävä tarkistus (vain Oragene-näytteet; ei tarpeen ORAcollect-näytteille)**

Punnitse näyte ja arvioi luovuttajan antaman syljen määrä (ks. Taulukko 1). Kerätty syljen määrä on suoraan verrannollinen kerätyn DNA:n määrään. Jos esimerkiksi luovuttajan antaman syljen määrä on alle 2 ml, voit odottaa saavasi näytteestä kaikkiaan vähemmän DNA:ta.

**Sarjan paino (ilman näytettä)**

Suosittelemme punnitsemaan näytteen, kun se saapuu laboratorioon, ja arvioimaan, onko luovuttaja antanut sopivan määrän sylkeä. Odota jonkinasteista vaihtelua luovuttajien välillä. Tässä on annettu tyhjän sarjan keskimääräinen paino (Taulukko 1). Arvioi kerätyn näytteen määrä (oletuksena 1 g/ml) seuraavalla laskutoimituksella:

*Näytteen sisältävän sarjan paino - Sarjan paino ilman näytettä*

*Kerätyn näytteen määrä*

| Taulukko 1              |                             |
|-------------------------|-----------------------------|
| Tuoteno                 | Sarjan paino ilman näytettä |
| OG-500/OGD-500/OGR-500  | 6,81 g                      |
| OG-510/OGD-510          | 5,83 g                      |
| OG-575/OGD-575/OGR-5757 | 5,66 g                      |
| ON-500                  | 6,47 g                      |
| ON-600                  | 6,86 g                      |
| OG-600/OGD-600/OGR-600  | 7,26 g                      |
| OG-610/OGD-610          | 6,28 g                      |
| OG-675/OGD-675/OGR-675  | 6,00 g                      |

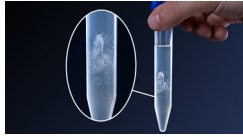

**Toimenpide**

| Puhdistusvaiheet  | Huomiot  |
|---|--|
| 1. Sekoita Oragene-/ORAcollect-näyte kääntelemällä putkea ylösalaisin tai ravistamalla sitä hellävaroen muutaman sekunnin ajan. | <ul style="list-style-type: none"><li>Näin varmistat, että viskoosiset näytteet sekoittuvat hyvin.</li></ul>   |
| 2. Inkuboi näytettä 50°C:n lämpötilassa vesi-inkubaattorissa vähintään 1 tunti tai ilmainkubaattorissa vähintään 2 tuntia.      | <ul style="list-style-type: none"><li>Tämä lämpökäsittelyvaihe on erittäin tärkeä, jotta DNA:ta vapautuisi mahdollisimman paljon ja jotta nukleasit inaktivoituisivat pysyvästi.</li><li>Voit inkuboida näytettä 50°C:n lämpötilassa yön yli, jos se on käytännöllisempää.</li><li>Voit tehdä tämän inkubaatiovaiheen milloin tahansa näytteen ottamisen ja DNA:n puhdistuksen välillä.</li><li>Ilmainkubaattori edellyttää pidemmän ajan, koska se saavuttaa lämpötasapainon vesi-inkubaattoria hitaammin.</li></ul> <p><b>Huomio:</b> Voi olla parempi käyttää ilmainkubaattoria, koska Oragene./ORAcollect-putket saattavat kellua vesikylvyssä. Jos sinun on käytettävä vesikylpyä, varmista, että putken näytettä sisältävä osa pysyy veden alla.</p> |
| 3. Siirrä koko näyte 15 ml:n sentrifugiputkeen (Kuva 1). Huomioi näytteen tilavuus.   | <ul style="list-style-type: none"><li>Voit tehdä siirron joko kaatamalla tai pipetoimalla lasi- tai muovipipetillä.</li></ul>  |



**Kuva 1:** Ennen kuin jatkat vaiheeseen 4, varmista, että olet inkuboinut koko näytteen ja siirtänyt sen uuteen 15 ml:n sentrifugiputkeen tässä kuvatulla tavalla.

| Puhdistusvaiheet   | Huomiot  |
|--|--|
| <p>4. Lisää 1/25 prepIT•L2P-tuotteen tilavuudesta ja sekoita ravistelemalla muutaman sekunnin ajan (Kuva 2).</p>  <p><i>Kuva 2: Kun olet lisännyt PT-L2P-tuotteen ja inkuboinut jäässä 10 minuuttia, näyte ei näytä enää kirkkaalta. Sen sijaan se on samea liuos.</i></p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Esim. lisää 160 mikrolittraa prepIT•L2P-tuotetta 4 millilitraan näytettä.</li> <li>• Näyte muuttuu sameaksi, kun epäpuhtaudet ja estäjät saostuvat.</li> </ul>  |
| <p>5. Inkuboi jäässä 10 minuuttia.</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Voit inkuboida näytettä myös huoneenlämmössä, mutta silloin epäpuhtauksia poistuu vähemmän tehokkaasti.</li> </ul>  |
| <p>6. Sentrifugoi 10 minuuttia huoneenlämmössä mahdollisimman suurella nopeudella vähintään voimalla 3 500 × g.</p>  <p><i>Kuva 3: Sentrifugoinnin jälkeen putken pohjalle on kerääntynyt sameaa materiaalia. Supernatantin pitäisi olla selvästi kirkasta.</i></p>        | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mitä suurempi keskipakovoima on, sitä vähemmän sameaa materiaalia siirtyy puhdistettuun DNA:han (Kuva 3). Ennen kuin jatkat, varmista putken valmistajalta, että 15 ml:n sentrifugiputket kestävät keskipakovoiman.</li> <li>• Pidempi sentrifugointi (korkeintaan 20 minuuttia) voi vähentää lopullisen DNA-liuoksen sameutta (korkea A<sub>320</sub>).</li> </ul> |
| <p>7. Siirrä puhdas supernatantti varovasti pipetillä uuteen 15 ml:n sentrifugiputkeen. <b>Hävitä pelletti.</b></p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Jätä putken pieni määrä supernatanttia, jottet osuisi pellettiin.</li> <li>• Pelletti sisältää sameita epäpuhtauksia. Jos kosket putkeen epähuomiossa, sentrifugoi se uudelleen.</li> </ul>   |

| Puhdistusvaiheet  | Huomiot  |
|---|--|
| <p>8. Lisää kirkkaaseen supernatanttiin 1,2-kertainen määrä huoneenlämpöistä 95–100 % etanolia. Sekoita hellävaroen kääntelemällä putki ylösalaisin 10 kertaa.</p>  <p><i>Kuva 4: Kun olet lisännyt etanolin, DNA saostuu, mikä saattaa tuottaa näkyvän säiehyttymän.</i></p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• DNA saostuu, kun sekoitat sen etanolin.</li> <li>• Saostunut DNA saattaa näkyä DNA-säikeiden hyyttymänä (Kuva 4) tai hienona saostumana riippuen DNA:n määrästä näytteessä.</li> </ul>  |
| <p>9. Anna näytteen olla huoneenlämmössä 10 minuuttia, jotta DNA saostuu kokonaan.</p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Emme suosittele ikubointia -20°C:n lämpötilassa, koska epäpuhtaudet saattavat saostua DNA:han.</li> </ul>   |
| <p>10. Sentrifugoi 10 minuuttia huoneenlämmössä mahdollisimman suurella nopeudella vähintään voimalla 3 500 × g.</p>  |  |
| <p>11. Poista supernatantti varovasti lasi- tai muovipipetillä ja hävitä se. Varo koskemasta DNA-pellettiin.</p>  <p><i>Kuva 5: Jos raavit putken sisäpintaa hellävaroen pipetikärjellä, saatat nähdä DNA-tahrana.</i></p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Supernatantti saattaa sisältää epäpuhtauksia, ja se on poistettava mahdollisimman täydellisesti.</li> <li>• Saostunut DNA on pellettinä putken pohjalla ja mahdollisesti tahrana putken kyljessä (Kuva 5).</li> <li>• DNA-tahra voi olla putken siinä kyljessä, joka osoitti pois päin sentrifugin keskustasta.</li> <li>• Voit paikallistaa tahrana "raavinta"-kokeella. Voit etsiä DNA-tahrana raapimalla putken sisäpintaa pipetikärjellä. Saatat nähdä kuvan 5 mukaisen tahrana.</li> </ul> |



| Puhdistusvaiheet  | Huomiot   |
|---|---|
| <p>12. Etanolihuuhtelu:<br/>Lisää putkeen varovasti 1 ml 70 % etanolia koskematta tahraan tai pellettiin. Anna putken olla huoneenlämmössä 1 minuutin ajan. <b>Pyörittele hellävaroen ja poista kaikki etanoli koskematta pellettiin tai tahraan.</b></p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>On tärkeää poistaa kaikki etanoli näytteestä. Näytteeseen jäänyt etanoli voi vaikuttaa määrityksen suorituskykyyn.</b></li> <li>• Varo koskemasta DNA-pellettiin tai tahraan.</li> <li>• Voit sentrifugoida näytettä lyhyesti (alle 1 minuutin), jotta kaiken supernatantin poistaminen olisi helpompaa.</li> <li>• Jos pelletti irtoaa etanolihuuhteluvaiheen jälkeen, sentrifugoi näytettä 5 minuuttia mahdollisimman suurella nopeudella. vähintään voimalla 3 500 × g.</li> </ul>   |
| <p>13. Jos käytät Oragene näytteitä, rehydratoi DNA lisäämällä 0,2–1 ml TE-liuosta ja ravistelemalla näytettä 30 sekuntia.</p> <p>Jos käytät ORAcollect näytteitä, rehydratoi DNA lisäämällä 0,2 ml TE-liuosta ja ravistelemalla näytettä 30 sekuntia.</p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Jos haluat korkeamman DNA-pitoisuuden, käytä pienempää määrää TE-liuosta. Käytä vähintään 200 mikrolitraa TE-liuosta.</li> <li>• Jos pelletti kuivuu liikaa (&gt; 10 minuuttia) ja käytät alle 500 mikrolitraa TE-liuosta, DNA:n rehydratointi (liukeneminen) voi vaikeutua, saatu määrä voi vähentyä ja kvantifiointi voi vaikeutua.</li> <li>• Saostunut DNA on pellettinä putken pohjalla ja mahdollisesti tahrana putken kyljessä.</li> <li>• Varmista mahdollisimman suuri DNA:n määrä ravistelemalla näytettä DNA-liuottimen lisäämisen jälkeen (TE-liuos). Ravisteleminen varmistaa, että putken kylkeen tarttunut DNA kerätään talteen (Kuva 6).</li> <li>• Ravisteleminen ei katko DNA-säikeitä.</li> </ul> |
| <p>14. Varmista DNA:n täydellinen rehydraatio inkuboimalla huoneenlämmössä yön yli ja sitten ravistelemalla tai inkuboimalla 50°C:n lämpötilassa 1 tunti ja ravistelemalla toisinaan.</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Riittämätön DNA:n rehydraatio aiheuttaa epätarkkuutta DNA-pitoisuuden arvioinnissa ja saattaa aiheuttaa häiriöitä myöhemmissä sovelluksissa, kuten PCR-analysissa.</li> </ul>  |

*Kuva 6: Jos ravistelet näytettä 30 sekuntia, voit ottaa talteen putken kylkeen tarttuneen DNA:n. DNA:n molekyyllipaino pysyy korkeana.*

| Puhdistusvaiheet   | Huomiot  |
|--|--|
| <p>15. Siirrä rehydratoitu DNA 1,5 ml:n mikrosentrifugiputkeen säilytettäväksi.</p>  |  |
| <p>Valinnainen vaihe:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Sentrifugoi rehydratoitua DNA:ta 15 minuuttia huoneenlämmössä voimalla 15 000 × g.</li> <li>Siirrä supernatantti uuteen 1,5 ml:n mikrosentrifugiputkeen koskematta pellettiin.</li> </ol>               | <p>Huomioi, että pelletissä on liukenematonta sameaa materiaalia.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Varmista mahdollisimman suuri DNA:n määrä varmistamalla DNA:n täydellinen rehydraatio (vaihe 14) ennen tätä sentrifugointivaihetta.</li> <li>• Tämä sentrifugointivaihe poistaa varmasti kaiken DNA-näytteessä edelleen olevan samean materiaalin.</li> <li>• Varo koskemasta pellettiä, kun siirät kirkkaan supernatantin uuteen putkeen.</li> </ul> |
| <p>16. Täydellisesti rehydratoidun DNA:n säilytysvaihtoehtoja:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Pitkäaikainen säilyttäminen TE:ssä -20°C:n lämpötilassa. Jaa halutessasi osanäytteiksi.</li> <li>Korkeintaan 2 kuukautta TE:ssä 4°C:n lämpötilassa.</li> </ol> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Puhdistetun DNA:n jäädyttäminen voi saada sen saostumaan. Kun sulatat jäädytettyä puhdistettua DNA:ta, kiinnitä huomiota erityisesti rehydraatioon, kuten vaiheessa 14 mainittiin.</li> </ul>   |

## DNA:n kvantifiointi

### Fluoresenssimenetelmällä

Fluoresoivia väriaineita hyödyntävät määritykset ovat 260 nm:n kohdalla absorbanssia tarkempia kaksisäikeisen DNA:n (dsDNA) kvantifiointissa DNA-näytteestä. Suosittelemme käyttämään kaupallisesti saatavia sarjoja, kuten Quant-iT™ PicoGreen™ dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) tai QuantiFluor® dsDNA System (Promega). DNA voi olla tarpeen laimentaa TE-liuoksella korkeintaan suhteessa 1:50 ennen käyttöä kvantifiointimäärityksessä.

### Absorbanssimenetelmällä

Jos päätät kvantifioida DNA:ta absorbanssin perusteella, suosittelemme käsittelemään puhdistetun näytteen ensin ribonukleasilla, joka pilkkoo kontaminoivaa RNA:ta, ja poistamaan sitten RNA-fragmentit saostamalla DNA:n etanolilla. Ohjelma on kuvattu tarkemmin asiakirjassa PD-PR-040, *RNA removal by double-RNase digestion*.<sup>1</sup> Huomioi, että suunäytteen DNA:ssa on tyypillisesti huomattavasti enemmän RNA:ta kuin verinäytteissä. Varmista, että alkoholilla saostettu DNA on täysin liuenut, ennen kuin luet absorbanssituloksen.

**Muuntokerroin:** Absorbanssi 1 260 nm:n kohdalla vastaa puhtaan kaksisäikeisen DNA:n pitoisuutta 50 ng/mikrol (50 mikrog/ml).

Varmista, että absorbanssiarvot ovat spektrofotometrin lineaarisella alueella. Laimenna ja mittaa uudelleen näytteet, jotka jäävät lineaarisen alueen ulkopuolelle. Lisätietoja on laitteesi asiakirjoissa.

### Viitteet

<sup>1</sup> RNA removal by double-RNase digestion. PD-PR-040. DNA Genotek.

### Menetelmä

1. Laimenna 10 mikrolitran osanäyte puhdistettua ribonukleasikäsiteltyä DNA:ta 90 mikrolitralla TE-liuosta (laimennos 1/10). Sekoita pipetoimalla hellävaroen ylös ja alas. Odota, että kuplat katoavat.
2. Käytä TE-liuosta (tyhjässä) viitesolussa.
3. Mittaa absorbanssi kohdissa 320 nm, 280 nm ja 260 nm.
4. Laske korjatut  $A_{280}$ - ja  $A_{260}$ -arvot vähentämällä absorbanssi kohdassa 320 nm ( $A_{320}$ ) arvoista  $A_{280}$  ja  $A_{260}$ .
5. DNA-pitoisuus ng/mikrol = korjattu  $A_{260} \times 10$  (laimennossuhde)  $\times 50$  (muuntokerroin).
6.  $A_{260}/A_{280}$ -suhde: Jaa korjattu  $A_{260}$ -arvo korjatulla  $A_{280}$ -arvolla.

### Esimerkki

1. Oletetaan, että mitattu  $A_{320} = 0,025$ ,  $A_{280} = 0,175$  ja  $A_{260} = 0,295$
2. Laimentamattoman näytteen DNA-pitoisuus on:  
 $(A_{260} - A_{320}) \times 10$  [laimennossuhde]  $\times 50$  [muuntokerroin]  
 $= (0,295 - 0,025) \times 10 \times 50$   
 $= 0,270 \times 10 \times 50$   
 $= 135 \text{ ng/mikrol tai } 135 \text{ mikrog/ml}$
3. Korjattu  $A_{260}/A_{280}$ -suhde on:  
 $(A_{260} - A_{320}) \div (A_{280} - A_{320})$   
 $= (0,295 - 0,025) \div (0,175 - 0,025)$   
 $= 0,270 \div 0,150$   
 $= 1,80$

Oragene-DNA ja ORAcollect DNA eivät ole myynnissä Yhdysvalloissa.

Oragene DISCOVER on ainoastaan tutkimuskäyttöön, ei käytettäväksi diagnostisissa toimenpiteissä.











Joitakin DNA Genotek -tuotteita ei välttämättä ole saatavilla kaikilla maantieteellisillä alueilla.

Oragene, prepIT, ORAcollect ja DNA Genotek ovat DNA Genotek Inc. -yhtiön tavaramerkkejä.

Kaikki muut tässä mainitut brändit ja nimet ovat omistajiensa omaisuutta.

Kaikki DNA Genotek -yhtiön ohjelmat, tekniset tiedotteet ja sovellusta koskevat huomautukset ovat saatavilla verkkosivustomme tukiosassa osoitteessa [www.dnagenotek.com](http://www.dnagenotek.com).

### Etiketin teksti:

|  |  |
|--|--|
|   | Diagnostinen lääketieteellinen In vitro -laite |
|  | Luettelonumero                                 |
|  | CE-merkintä                                    |
|  | Valmistaja                                     |
|  | Katso pakkausseloste                           |
|  | Euroopan valtuutettu edustaja                  |
|  | Sveitsin valtuutettu edustaja                  |
|  | Eränumero                                      |
|  | Yksilöllinen laitetunniste                     |
|  | Käytön aikainen stabiilitetti                  |
| 15°C / 30°C<br>59°F / 86°F   | Säilytysohjeet                                 |

Patentti ([www.dnagenotek.com/legalnotices](http://www.dnagenotek.com/legalnotices))

PD-HB-34 (FI - Finnish) Issue 1/2024-01

© 2024 DNA Genotek Inc., OraSure Technologies, Inc.

-yhtiön tytäryhtiö, kaikki oikeudet pidätetään.

**DNAGENOTEK™**

[www.dnagenotek.com](http://www.dnagenotek.com)