KYLT®

SAN® VET

KYLT® *RNA / DNA PURIFICATION HTP RTU*

HOCHDURCHSATZ-AUFREINIGUNGSKIT FÜR RNA UND DNA FÜR DIE VETERINÄRDIAGNOSTIK

ℹ Nur für *in vitro* Gebrauch.

WWW.KYLT.EU | WWW.SAN-VET.COM

Passion for Innovation

KYLT®
RNA / DNA PURIFICATION HTP RTU

Hochdurchsatz-Aufreinigungskit für RNA und DNA für die Veterinärdiagnostik

1. GENERAL

- Das Kylt® RNA / DNA Purification HTP RTU Kit wurde entwickelt, um den ersten entscheidenden Schritt in jeder molekulardiagnostischen Anwendung zu vereinfachen, die Aufreinigung von Zielnukleinsäuren aus veterinärdiagnostischen Proben.
- Das Kylt® RNA / DNA Purification HTP RTU ist für die Verwendung mit Automatisierungsgeräten vorgesehen. Sie ermöglichen die gleichzeitige Aufreinigung aller relevanten Nukleinsäuren (virale RNA und DNA sowie prokaryotische und eukaryotische RNA und DNA, z. B. von Bakterien und deren Wirtsspezies) aus einem breiten Spektrum von Probenmatrices wie Tupfern, Gewebe, Kot, Serum, Plasma und anderen Körperflüssigkeiten von verschiedenen Tierarten und deren Umgebung. Proben aus kulturellen Prozessen, z. B. aus bakteriellen Voranreicherungen, können ebenfalls direkt verwendet werden.
- Dieses Kit ist für die Verwendung durch geschultes Laborpersonal gemäß den in diesem Handbuch beschriebenen standardisierten Verfahren vorgesehen.
- Tragen Sie bei der Arbeit mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Handschuhe und eine Schutzbrille und beachten Sie die angegebenen Sicherheitshinweise.
- Alle Bestandteile des Kits können bei Raumtemperatur gelagert werden und sind ab dem Herstellungsdatum 18 Monate lang haltbar.

31576 Kylt® RNA / DNA Purification HTP RTU

Komponente	Inhalt	Hinweis	GHS-Symbol
Lysis Solution	60 ml	Bei Bedarf IC-RNA zusetzen und Aliquots bei ≤ -18 °C lagern.	
Proteinase K	5 x 1,6 ml	Nach dem Öffnen bei +2 bis +8 °C lagern.	
Magnetic Beads	5 x 1,6 ml	Durch gründliches Vortexen resuspendieren.	
Binding Solution	240 ml		
Wash Solution I	2 x 240 ml		
Wash Solution II	240 ml		
Elution Buffer	60 ml		

2. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL UND REAGENZIEN

Neben den Einwegartikeln werden die folgenden Geräte und Reagenzien benötigt:

- Kylt® Purifier oder ein anderer Magnetpartikelprozessor, Liquid-Handling-Roboter oder Magnetseparator.
- Einwegartikel für die verwendeten Automatisierungsgeräte (z. B. Platten, Spitzenkämme, Pipettenspitzen).
- Beheizbarer Plattenschüttler (falls die Lyse nicht im Gerät durchgeführt wird).
- Vortex.
- Mikropipetten für Volumina von 10 µl bis 1000 µl. Gefilterte Spitzen sind obligatorisch.
- Homogenisator für Gewebeproben (z. B. Röhrchen mit Stahlkugeln oder Mörser mit Pistill).
- Physiologische Natriumchloridlösung (NaCl 0,9 %) oder Kylt® Swab Wash Solution zum Auswaschen von Tupfern oder zur Gewebehomogenisierung.

3. ALLGEMEINE EMPFEHLUNGEN

Es sollte sehr sorgfältig darauf geachtet werden, dass die aufgereinigte RNA nicht durch RNase-Kontamination abgebaut wird. RNasen sind sehr stabile und aktive Enzyme. Obwohl sie durch die Komponenten des Kits inaktiviert werden, sollte jede zusätzliche RNase-Kontamination vermieden werden, um höchste Sensitivität in nachgeschalteten Untersuchungen zu gewährleisten.

Um den Arbeitsbereich frei von RNasen zu halten, sollten diese Ratschläge befolgt werden:

- Nur RNase-freie Einmalartikel verwenden.
- Während der manuellen Schritte und beim Umgang mit den Eluaten Handschuhe tragen.
- Aufgereinigte Eluate nach Möglichkeit auf Eis oder gekühlt halten.

4. PROBENVORBEREITUNG

Probenpoolung ist möglich, muss jedoch im Nachweissystem validiert sein. Grundsätzlich sollten nicht mehr als fünf Proben bzw. Proben von 5 Tieren pro Aufreinigung gepoolt werden.

- Tupfer sollten in ausreichend steriler physiologischer Kochsalzlösung für mindestens 5 Minuten eingeweicht und durch Puls-Vortexen ausgewaschen werden. Der Überstand wird verwendet.
- Es ist auch möglich, die Tupfer in separat erhältlicher Kylt® Swab Wash Solution auszuwaschen. Hierdurch kann die Zugabe des Lysepuffers zur Probe entfallen und 330 µl Überstand verwendet werden.
- Es können bis zu 20 mg Gewebe pro Aufreinigung eingesetzt werden. Dazu kann zum Beispiel 40 mg Gewebe in 400 µl steriler physiologischer Kochsalzlösung homogenisiert werden. Das Röhrchen wird dann kurz zentrifugiert und dann werden 200 µl als Probe eingesetzt.
- Material aus kulturellen Prozessen, wie Zellkulturüberstand, Allantoisflüssigkeit oder flüssige Proben mit geringem Wirtszellanteil, wie bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit, können direkt verwendet werden.
- Kotproben sollten in der 10-fachen Menge einer sterilen physiologischen Natriumchloridlösung suspendiert werden. Kurz zentrifugieren, um große Rückstände zu entfernen. 200 µl des Überstandes verwenden.
- Ausschnitte aus Probenkarten (z.B. ANICARD oder FTA cards), die mit den oben genannten Proben beladen sind können für die Aufreinigung verwendet werden. Dazu die Ausschnitte in einem Röhrchen mit ausreichend steriler physiologischen Kochsalzlösung und zusätzlich Lysepuffer und Proteinase K (Volumina anpassen) lysieren. Danach 350 µl Überstand für die Aufreinigung verwenden. Abhängig von der Größe und Anzahl der Ausschnitte muss das Gesamtvolumen angepasst werden. Achtung, ein zu hohes Gesamtvolumen kann die Proben verdünnen und so zu reduzierter Sensitivität führen.

5. LYSEPROTOKOLL

- Kylt® RNA / DNA Purification HTP RTU ist für alle veterinärdiagnostischen Proben geeignet wenn das universelle zwei-Schritt Protokoll mit separater Lyse verwendet wird.
- Es ist möglich den Lyseschritt auszulassen und direkt mit der Bindung fortzufahren. Dies sollte für komplexe Proben (z.B. Kotproben oder Vollblut) verifiziert werden.

6. VERWENDUNG IM KYLT® PURIFIER

LYSE

- Magnetische Beads durch vortexen resuspendieren.
- Für jede Probe 20 µl Proteinase K und 20 µl magnetische Beads in jedes verwendete Well der Kylt® Purifier Platte geben. (Beschriften mit "Bind").
- 200 µl Probe und 130 µl Lysis Solution oder 330 µl Überstand einer Tupferprobe in Kylt® Swab Wash Solution zu je einem Well mit Beads und Proteinase K zugeben.
- Methode "Kylt-Lysis" am Kylt® Purifier starten.
- Kylt® Purifier Spin Tips auf Position 8 stellen.
- Kylt® Purifier Plate "Bind" mit den Proben auf Position 1 stellen und zum Start der Lyse bestätigen.

VORBEREITUG DER WEITEREN PLATTEN

Während der Lyse können die 4 übrigen Kylt® Purifier Platten befüllt werden:

- Die erste Kylt® Purifier Platte mit "W-1" beschriften und jedes verwendete Well mit 500 µl Wash Solution I befüllen.
- Markieren Sie die zweite Kylt® Purifier Platte mit "W-2" und füllen sie jedes verwendete Well mit 500 µl Wash Solution I.
- Die dritte Kylt® Purifier Platte wird mit "W-3" beschriftet und jedes verwendete Well wird mit 500 µl Wash Solution II befüllt.
- Die letzte Kylt® Purifier Platte wird mit "ELUT" beschriftet und jedes Well mit 100 µl Elution Buffer gefüllt.

BINDUNG

- Nachdem die Lyse beendet ist (ca. 15 min), direkt das Protokoll "Kylt-Purif" im Kylt® Purifier starten.
- Die Kylt® Spin Tips verbleiben an Position 8, bitte bestätigen.
- Entnehmen Sie nun Kylt® Purifier Platte "Bind" mit den lysierten Proben.
- 500 µl Binding Solution zu jedem verwendeten Well zugeben.

AUFREINIGUNG

- Die Kylt® Purifier Platte "Bind" auf Position 1 stellen und dies am Display bestätigen.
- Nun die Kylt® Purifier Platten W-1, W-2, W-3 und ELUT entsprechend der Anzeige laden.
- Jetzt den Start der Purification-Methode bestätigen.

ABSCHLUSS DER AUFREINIGUNG

- Nach 30 Minuten ist das Protokoll beendet und die Platte mit den Eluaten steht vorne im Gerät.
- Das Eluat enthält die aufgereinigte DNA und RNA.
- Die Platte entnehmen und direkt für die Real-Time (RT-) PCR verwenden oder mit Klebefolie versiegeln.
- Die Langzeitlagerung sollte bei ≤ -18 °C oder bei ≤ -70 °C gelagert werden.
- Die anderen Platten und die Kylt® Purifier Spin Tips entladen und gemäß den eigenen Richtlinien entsorgen.

7. VERWENDUNG IM KYLT® PURIFIER 48

VORBEREITUNG DER PLATTEN

- Für jede Probe 100 µl Elution Buffer pro Well in die Spalten 6 und 12 der Kylt® Purifier Platte(n) füllen.
- In die Spalten 4 und 10 wird 500 µl Wash Solution II gegeben.
- Die Spalten 2, 3, 8 und 9 erhalten je 500 µl Wash Solution I.
- Magnetische Beads durch vortexen gründlich resuspendieren.
- Für jede Probe je 20 µl Proteinase K und 20 µl Magnetische Beads in ein Well der Spalten 1 und 7 der Kylt® Purifier Platte geben.
- 200 µl Probe und 130 µl Lysis Solution zugeben oder 330 µl Überstand einer Tupferprobe in Kylt® Swab Wash Solution zu jedem verwendeten Well der Spalten 1 und 7 der Kylt® Purifier Plate geben.

LYSE

- Kylt® Spin Tips für jede verwendete Position laden.
- Kylt® Spin Tips Platte entnehme und die vorbereitete Kylt® Purifier Plate auf die Position stellen.
- Unbedingt auf richtige Ausrichtung achten: Die Spalte 1 muss auf der linken Seite sein.
- Das Programm "Kylt-Purification" starten.
- Nach Abschluss der Lyse die Platte vorsichtig entnehmen.

AUFREINIGUNG

- 500 µl Binding Solution in jedes verwendete Well der Spalten 1 und 7 geben.
- Idealerweise durch kurzes Auf- und Abpipettieren mischen.
- Die Platte in korrekter Orientierung auf die ursprüngliche Position zurückstellen.
- Methode fortsetzen.
- Die Bearbeitung ist nach 30 Minuten abgeschlossen.
- Die Kylt® Spin Tips werden automatisch in die Bearbeitungsplatte abgesetzt.
- Die Eluate aus den Spalten 6 und 12 sollten in eine neue Platte umpipettiert werden.
- Die Eluate können direkt für die Real-Time (RT-) PCR verwendet werden.
- Andernfalls die Platte mit Klebefolie versiegeln und für die Langzeitlagerung bei ≤ -18 °C oder bei ≤ -70 °C lagern.

8. MANUELLE VERWENDUNG

LYSIS

- Magnetische Beads durch vortexen gründliche resuspendieren.
- Für jede Probe, 20 µl Proteinase K und 20 µl Magnetische Beads in ein Well einer kompatiblen Platte geben.
- 200 µl Probe und 130 µl Lysis Solution zugeben oder 330 µl Überstand einer Tupferprobe in Kylt® Swab Wash Solution in jedes verwendete Well der Platte geben.
- Durch Auf- und Abpipettieren oder Schütteln mischen.
- 10 Minuten bei +56 ± 2 °C inkubieren, idealerweise mit Schütteln.

BINDUNG

- 500 µl Binding Solution zugeben.
- Gründlich durch Pipettieren oder Schütteln mischen.
- 5 Minuten inkubieren, währenddessen die Magnetischen Beads in Suspension halten.
- Platte auf eine Magnetplatte stellen und vollständiges Separieren der Beads abwarten (ca. 1 Minute).
- Überstand mit der Pipette entfernen und entsorgen.

WASCHSCHRITT 1

- 500 µl Wash Solution I zugeben.
- Beadpellet gründlich durch Pipettieren oder Schütten resuspendieren.
- Beads 2 Minuten in Suspension halten.
- Platte auf eine Magnetplatte stellen und vollständiges Separieren der Beads abwarten (ca. 1 Minute).
- Überstand mit der Pipette entfernen und entsorgen.

WASCHSCHRITT 2

- Waschschritt I wiederholen.

WASCHSCHRITT 3

- 500 µl Wash Solution II zugeben.
- Beadpellet gründlich durch Pipettieren oder Schütten resuspendieren.
- 5 Minuten inkubieren, währenddessen die Magnetischen Beads in Suspension halten.
- Platte auf eine Magnetplatte stellen und vollständiges Separieren der Beads abwarten (ca. 1 Minute).
- Überstand mit der Pipette entfernen und entsorgen.

LUFTTROCKNUNG

- Das Bead Pellet an der Luft trocknen, bis es rissig aussieht (5 bis 10 Minuten).
- Mithilfe eines Heizschüttlers +56 ± 2 °C kann die Trocknung beschleunigt werden.

ELUTION

- Das Beadpellet mit 50-200 µl Elution Buffer resuspendieren.
- Eine Minute bei +56 ± 2 °C inkubieren.
- Platte auf eine Magnetplatte stellen und vollständiges Separieren der Beads abwarten (ca. 1 Minute).
- Die Eluate in eine neue Platte übertragen und direkt in der nachfolgenden Real-Time PCR verwenden.
- Die langfristige Lagerung sollte bei ≤ -18 °C oder ≤ -70 °C erfolgen.

9. BESTELLUNG

Für schnellen und effizienten Service senden Sie Ihre Bestellung bitte an orders.kylt-de@san-group.com mit folgenden Informationen:

- Lieferadresse
- Rechnungsadresse
- Telefonkontakt des Bestellers
- Name und Telefonnummer des Endnutzers (wenn abweichend)
- Bestellnummer
- Produktbezeichnung und Artikelnummer
- Menge und Verpackungseinheit

10. REVISIONEN

Revision	Status	Anpassungen
Rev001	November 2024	Neues Produkt

Produktion: Produktion: SAN Group Biotech Germany GmbH · Muehlenstrasse 13 · 49685 Hoeltinghausen · Deutschland

www.kylt.eu · kylt-de@san-group.com

Entwicklung, Herstellung und Vertrieb von Kylt® In-Vitro Diagnostika ist ISO 9001:2015 zertifiziert.

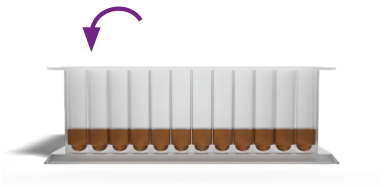
Kylt® ist ein eingetragenes Warenzeichen.

Nur für Veterinärgebrauch. Nur für in vitro-Gebrauch. Die regulatorischen Anforderungen können je nach Land variieren, dadurch sind ggf. nicht alle beschriebenen Produkte in Ihrer Region erhältlich.

© 2024 SAN Group Biotech Germany GmbH. Alle Rechte vorbehalten. Die in diesem Dokument genannten Marken sind Eigentum der SAN Group Biotech Germany GmbH bzw. der entsprechenden Markeninhaber

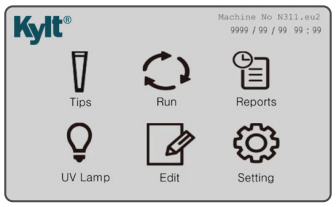
KURZPROTOKOLL - KYLT PURIFIER

1



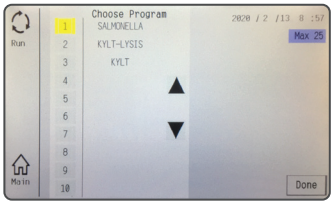
1.1
20 µl Proteinase, 20 µl Magnetische Beads, 200 µl Probe, 130 µl Lysis Solution

1.2
Kylt® Purifier einschalten.

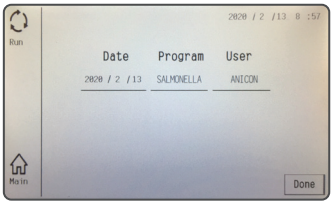


1.3
Wähle "Lauf".

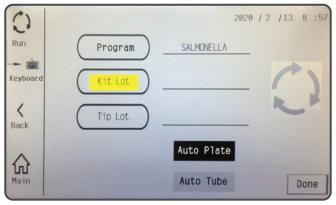
2



2.1
Kylt-Lysis wählen.

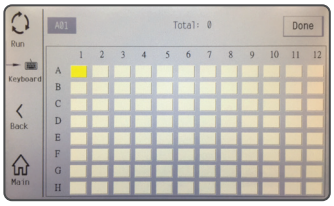


2.2
Bestätigen.

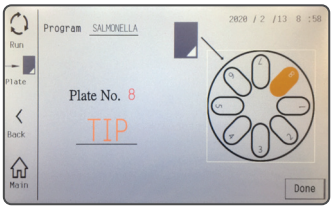


2.3
Bei Bedarf Chargendaten eintragen.

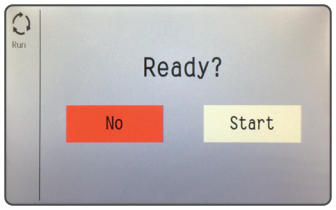
3



3.1
Probennummern eintragen.

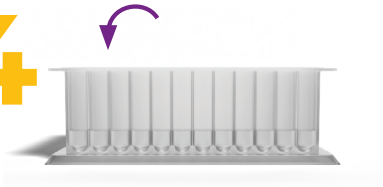


3.2
Platten wie angezeigt laden.

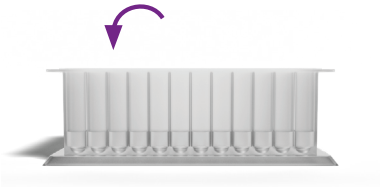


3.3
Start bestätigen.

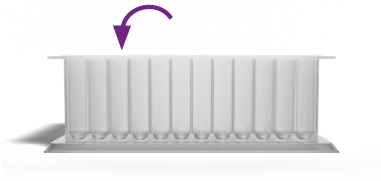
4



4.1
500 µl Wash Solution I in Platte W-1 und W-2.



4.2
500 µl Wash Solution II in Platte W-3.

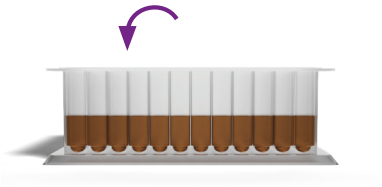


4.3
100 µl Elution Buffer in die Elutionsplatte.

5

5.1
Ende der Lyse anwarten.

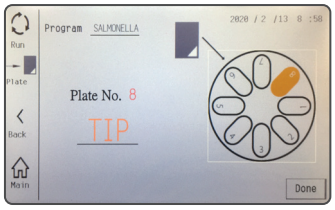
5.2
Die Platte "BIND" entnehmen.



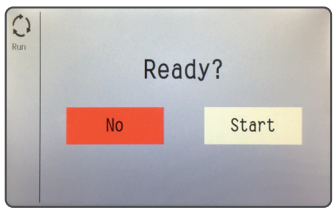
5.3
500 µl Binding Solution zugeben.

6

6.1
Protokoll "Kylt-Purif." starten.



6.2
Kylt® Purifier wie angezeigt beladen.



6.3
Start bestätigen.

7

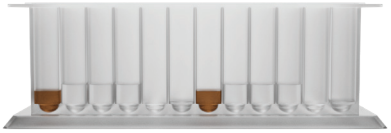
7.1
Abschluss des Protokolls abwarten und Kylt® Purifier entladen.

7.2
Die Eluate können direkt in der qPCR eingesetzt werden.

KURZPROTOKOLL - KYLT PURIFIER 48

1

Spalte 1/7	Spalte 2/8	Spalte 3/9	Spalte 4/10	Spalte 6/12
20 µl Proteinase K 20 µl Magn. Beads 200 µl Probe 130 µl Lysis Solution	500 µl Wash Solution 1	500 µl Wash Solution 1	500 µl Wash Solution 2	100 µl Elution Buffer

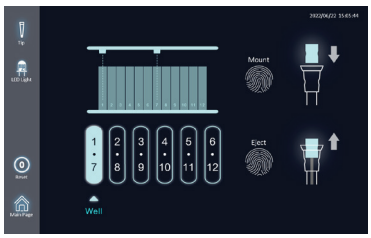


1.1
Die Platte spaltenweise der Tabelle und Probenzahl entsprechend befüllen.

2

2.1
Kylt® Purifier 48 einschalten und anmelden.

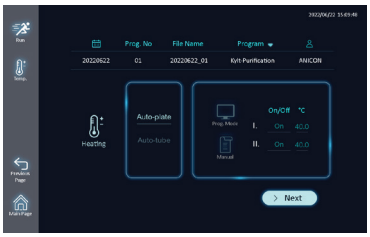
2.2
Tip wählen.



2.1
Spin Tips mit "Mount" laden.

3

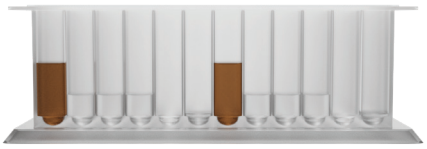
3.1
"Home" und dann "Run" wählen und "Kylt-Purification" wählen.



3.2
Platte laden und die weiteren Anzeigen bestätigen.

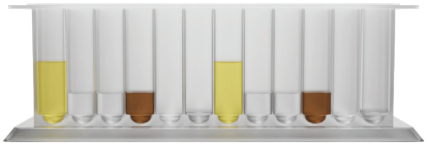
4

4.1
Abschluss der Lyse abwarten und Platte vorsichtig entnehmen.

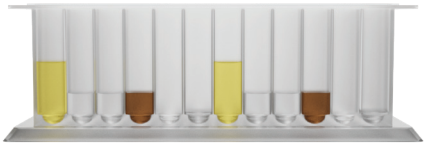


4.2
500 µl Binding Solution zu den Spalten 1 und 7 zugeben. Platte zurückstellen und Protokoll fortsetzen.

5



5.1
Abschluss des Protokolls abwarten und Platte entnehmen.



5.2
Die Eluate sind in den Spalten 6 und 12 können direkt in der qPCR eingesetzt werden