



Инструкция к набору LumiMag® ВВ для выделения ДНК на магнитных частицах из цельной крови и буккального эпителия



Contents

Русский: Инструкция к набору LumiMag® BB для выделения	
ДНК на магнитных частицах из цельной крови и буккального	
пителия	3-13



Инструкция к набору LumiMag® BB для выделения ДНК на магнитных частицах из цельной крови и буккального эпителия

Набор предназначен для быстрого и высокоэффективного выделения геномной ДНК из цельной крови и соскобов эпителия на магнитных частицах. Он совместим с автоматическими рабочими станциями KingFisher™ Flex, MagMAX™ Express-96, KingFisher™ Duo Prime, KingFisher™ mL, а также подходит для ручного выделения ДНК с использованием магнитного штатива.

Полученная ДНК не содержит примесей белков, подходит для проведения ПЦР, обработки эндонуклеазами рестрикции, Саузерн-блоттинга, подготовки образцов для секвенирования по методу Сэнгера и NGS-секвенирования.

Состав набора

Компонент набора	Количество	
	11753 10 minipreps	31753 100 minipreps
B1715, Магнитные частицы / Magnetic Beads (100 мг/мл), 200 uL	1	_
22850, Протеиназа К / Proteinase К (лиофилизованная), 10 mg	1	_
B3850, Буфер для растворения протеиназы К / Proteinase K Dilution Buffer, 600 uL	1	_
F4150, Лизирующий раствор BB / Lysis Solution BB, 4 mL	2	_
G6450, Промывочный раствор MAG A / Wash Solution MAG A (c GuHCl), 5 mL	1	_
D1715, Магнитные частицы / Magnetic Beads (100 мг/мл), 2 mL	_	1



62850, Протеиназа К / Proteinase К (лиофилизованная), 100 mg	_	1
D3850, Буфер для растворения протеиназы K / Proteinase K Dilution Buffer, 1200 uL	_	1
P4150, Лизирующий раствор BB / Lysis Solution BB, 35 mL	_	2
S6450, Промывочный раствор MAG A / Wash Solution MAG A (с GuHCl), 50 mL	_	1
K2250, Промывочный раствор B / Wash Solution B (концентрат 5х для разбавления 96% зтанолом), 10.0 mL	1	1
K1350, Элюирующий буфер / Elution Buffer (10 мМ Tris-HCl, pH 8.5), 10 mL	1	1
P4150, Лизирующий раствор BB / Lysis Solution BB, 35 mL S6450, Промывочный раствор MAG A / Wash Solution MAG A (с GuHCl), 50 mL K2250, Промывочный раствор B / Wash Solution B (концентрат 5х для разбавления 96% этанолом), 10.0 mL K1350, Элюирующий буфер / Elution Buffer (10 мМ Tris-HCl,	_ _ 1	1 1

Хранение и транспортировка при комнатной температуре.

Срок хранения 12 месяцев.

Необходимое оборудование и материалы, не входящие в состав набора:

- Автоматическая рабочая станция (KingFisher™ Flex, MagMAX™ Express-96, KingFisher™ Duo Prime, KingFisher™ mL) / магнитный штатив
- При использовании магнитного штатива: пробирки типа эппендорф объемом 1,5 мл (2 пробирки для выделения ДНК из 1 образца)
- 96% этанол
- Натрий-фосфатный буфер (PBS) для выделения ДНК из соскобов эпителия
- (опционально) шейкер для планшетов
- Расходный пластик при использовании автоматической рабочей станции:

KingFisher™ Flex Purification System или MagMAX™ Express-96 Deep Well Magnetic Particle Processor			
95040460	96-луночный планшет Microtiter DW с глубокими лунками		
97002540	Планшет KingFisher 96 KF 200 мкл		



97002534	Гребенка наконечников KingFisher 96 для 96 магнитов DW-формат
	Адгезивная фольга для заклеивания планшетов

KingFisher™ Duo Prime	
97003530	Haбop Combi для KingFisher Duo для планшета Microtiter с глубокими лунками (набор планшетов, гребенок наконечников и стрипов для элюирования)
или	
97003520	Стрип для элюирования для KingFisher Duo
97003500	Гребенка наконечников (12-канальные) для 96-лун. планшета Microtiter с глубокими лунками
95040460	96-луночный планшет Microtiter с глубокими лунками

KingFisher™ mL	
97002141	KingFisher mL Combi 240 (набор стрипов и гребенок наконечников)
или	
97002111	Гребенка наконечников KingFisher mL
97002121	Стрип KingFisher mL

Перед началом работы

- Разбавьте концентрат промывочного раствора В в 5 раз 96% этанолом (к указанному на банке объему концентрата добавьте 4 объема 96% этанола), поставьте отметку о добавлении этанола на крышке.
- Добавьте 1 мл буфера для растворения протеиназы К в пробирку с лиофилизованной протеиназой К, тщательно перемешайте, сбросьте капли центрифугированием.
 - ! Раствор протеиназы К после приготовления хранить в морозилке при -20°C.
- 3. При наличии осадка в лизирующем растворе ВВ и промывочном растворе



- $\it MAGA$ прогрейте их в термостате до температуры не выше $+50^{\circ}\rm C$ и дождитесь полного растворения осадка.
- 4. В случае использования шейкера для планшетов, подберите оптимальные условия для эффективного перемешивания:
 - Убедитесь, что планшет плотно фиксируется в шейкере.
 - Добавьте в лунки планшета 1 мл воды и накройте планшет фольгой.
 Определите максимальную скорость шейкера, при которой вода из лунок не выплескивается на фольгу.

RU

Подготовка образцов

Соскобы эпителия:

- 1. Добавьте в чистую 1,5 мл пробирку 1 мл PBS.
- 2. Тщательно промойте в PBS палочку с соскобом эпителия. Отрежьте верхнюю часть палочки, закройте пробирку.
- 3. Встряхните содержимое пробирки с помощью вортекса в течение 2-3 минут.
- 4. В качестве образца используйте 200 мкл супернатанта.

Цельная кровь: Тщательно перемешайте пробирку с кровью и используйте 200 мкл в качестве образца.



Выделение ДНК с использованием автоматической рабочей станции KingFisher™ Flex, MagMAX™ Express-96

 Подготовьте планшеты для автоматической обработки образцов на приборе согласно таблице ниже.

! Заклейте адгезивной фольгой приготовленные планшеты с растворами до загрузки в прибор для предотвращения контаминации и испарения растворов.

ID планшета	Позиция планшета в приборе	Тип планшета	Реагент	Объем на лунку
Wash Plate 1	2	С глубокими лунками	Промывочный раствор MAG A	500 мкл
Wash Plate 2	3	С глубокими лунками	Промывочный раствор В	500 мкл
Elution	4	Стандартный	Элюирующий буфер	90 мкл
Tip Comb	5	Стандартный	Поместите гребенку нак в планшет	онечников

- 2. Тщательно ресуспендируйте суспензию магнитных частиц на вортексе.
- В отдельной пробирке приготовьте смесь магнитных частиц с раствором протеиназы К по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл суспензии магнитных частиц + 10 мкл раствора протеиназы К.
- Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы К. Внесите по 30 мкл смеси в лунки планшета (с глубокими лунками).
- Добавьте по 200 мкл образца цельной крови/соскоба эпителия (см. раздел Подготовка образцов) к смеси магнитных частиц и протеиназы К.
- 6. Тщательно перемешайте содержимое лунок планшета:

RU

 С использованием шейкера для планшетов 2 минуты при максимальных оборотах (предварительно определив максимальные обороты, см. раздел Перед началом работы),
 ИПИ

- Пипетированием, после чего инкубируйте 2 минуты при комнатной температуре.
- 7. Добавьте в лунки по 700 мкл Лизирующего раствора ВВ.
- 8. Переходите к процедуре автоматической обработки образцов на приборе. Для этого выберите соответствующую программу на приборе и запустите ее.

Используйте программу MagMAX_CORE:

Название прибора	Название программы с нагревом	Название программы без нагрева (опционально)
KingFisher™ Flex	MagMAX_CORE_Flex.bdz	MagMAX_CORE_Flex_no_heat.bdz
KingFisher™ 96 MagMAX™ Express-96	MagMAX_CORE_KF-96.bdz	MagMAX_CORE_KF-96_no_heat.bdz

9. Следуя указаниям прибора, поместите в прибор подготовленные планшеты с растворами (п.1) и с образцами (п.7).

Хранение выделенной ДНК: в морозильной камере (-20°C), кратковременно при $+4^{\circ}\mathrm{C}$



Выделение ДНК с использованием автоматической рабочей станции KingFisher™ Duo Prime, KingFisher™ mL

- 1. Тщательно ресуспендируйте суспензию магнитных частиц на вортексе.
- В отдельной пробирке приготовьте смесь магнитных частиц с раствором протеиназы К по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл суспензии магнитных частиц + 10 мкл раствора протеиназы К.
- Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы К. Внесите по 30 мкл смеси в лунки планшета/стрипа.
- 4. Добавьте по 200 мкл образца цельной крови/соскоба эпителия (см. раздел Подготовка образцов) к смеси магнитных частиц и протеиназы К.
- 5. Тщательно перемешайте содержимое лунок планшета/стрипа:
 - С использованием шейкера для планшетов 2 минуты при максимальных оборотах (предварительно определив максимальные обороты, см. раздел Перед началом работы),
 ИПИ
 - При работе со стрипами для KingFisher $^{\text{тм}}$ mL: пипетированием, после чего инкубируйте 2 минуты при комнатной температуре.
- 6. Добавьте в лунки по 700 мкл Лизирующего раствора ВВ.
- Добавьте Промывочный раствор МАБ А, Промывочный раствор В, Элюирующий буфер и образцы в соответствующие лунки планшета/стрипа согласно таблице ниже.
 - Загружайте на прибор гребенки наконечников и приготовленные согласно таблице готовые планшеты/стрипы одновременно.

KingFishe	er™ Duo Prime			
ID ряда	Ряд в планшете	Тип планшета	Реагент	Объем на лунку



Sample	Α		Образец (полученный в п.6)	930 мкл
Wash 1	В	С глубокими лунками	Промывочный раствор MAG A	500 мкл
Wash 2	С		Промывочный раствор В	500 мкл
Elution	Отдельный стрип	Стрип для элюирования	Элюирующий буфер	90 мкл
Tip Comb	Н	С глубокими лунками	Поместите гребенку наконов планшет	РЧНИКОВ

KingFisher	" mL			
ID позиции	Позиция стрипа в приборе	Лунка	Реагент	Объем на лунку
Sample	1		Образец (полученный в п.6)	930 мкл
Wash 1	2	Стандартная	Промывочный раствор MAG A	500 мкл
Wash 2	3		Промывочный раствор В	500 мкл
Elution	4		Элюирующий буфер	90 мкл
Tip Comb	_	_	Поместите гребенку в держатель.	

8. Переходите к процедуре автоматической обработки образцов на приборе. Для этого выберите соответствующую программу на инструменте и запустите ее.



Используйте программу MagMAX CORE:

Название прибора	Название программы с нагревом	Название программы без нагрева
KingFisher™ Duo Prime	MagMAX_CORE_DUO.bdz	MagMAX_CORE_DUO_no_heat.bdz
KingFisher™ mL	_	MagMAX_CORE_mL_no_heat.bdz

Хранение выделенной ДНК: в морозильной камере (-20°C), кратковременно при $+4^{\circ}$ C.

Выделение ДНК с использованием магнитного штатива

- 1. Тщательно ресуспендируйте суспензию магнитных частиц на вортексе.
- 2. В отдельной пробирке приготовьте смесь магнитных частиц с раствором протеиназы К по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл *магнитных частиц* + 10 мкл раствора *протеиназы К*.
- Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы К. Внесите по 30 мкл смеси в отдельные пробирки, совместимые с магнитным штативом.
- Добавьте по 200 мкл образца цельной крови/соскоба эпителия (см. раздел Подготовка образцов) в пробирку со смесью магнитных частиц и протеиназы К.
- Тщательно перемешайте содержимое пробирки на вортексе. Инкубируйте 2 минуты при комнатной температуре.
- 6. Добавьте в каждую пробирку 700 мкл *Лизирующего раствора ВВ*. Тщательно перемешайте на вортексе.
- Поместите пробирки в магнитный штатив. Подождите, пока магнитные частицы полностью перейдут в осадок. Тщательно удалите супернатант (например, с помощью дозатора).

RU

- 8. Добавьте 500 мкл *Промывочного раствора MAG A*, тщательно перемешайте на вортексе или пипетированием. Поместите пробирки в магнитный штатив, после осаждения частиц удалите супернатант.
- Добавьте 500 мкл Промывочного раствора В, тщательно перемешайте на вортексе или пипетированием. Поместите пробирки в магнитный штатив, после осаждения частиц удалите супернатант.
- Добавьте 90 мкл Элюирующего буфера, тщательно перемешайте на вортексе или пипетированием. Инкубируйте 5 минут при комнатной температуре. Поместите пробирки в магнитный штатив, после осаждения частиц супернатант содержит выделенную геномную ДНК. Перенесите супернатант в новую чистую пробирку.

Хранение выделенной ДНК: в морозильной камере (-20°C), кратковременно при $+4^{\circ}\mathrm{C}$



22.09.509-QM Issued by INSPECT

