



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

Contents

Русский: Инструкция к набору LumiMag® ВВ для выделения ДНК на магнитных частицах из цельной крови и Buccalного эпителия	3-13
---	------

Инструкция к набору LumiMag® ВВ для выделения ДНК на магнитных частицах из цельной крови и Buccalного 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	31753
	10 minipreps	100 minipreps
B1315, Магнитные частицы / Magnetic Beads (100 мг/мл), 200 µL	1	—
22850, Протеиназа К / Proteinase K (лиофилизованная), 10 mg	1	—
B3850, Буфер для растворения протеиназы К / Proteinase K Dilution Buffer, 600 µL	1	—
F4150, Лизирующий раствор ВВ / Lysis Solution ВВ, 4 mL	2	—
G6450, Промывочный раствор MAG А / Wash Solution MAG А (с GuHCl), 5 mL	1	—
D1315, Магнитные частицы / Magnetic Beads (100 мг/мл), 2 mL	—	1

62850, Протеиназа К / Proteinase K (лиофилизованная), 100 мг	—	1
D3850, Буфер для растворения протеиназы К / Proteinase K Dilution Buffer, 1200 µL	—	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 5x для разбавления 96% этанолом), 10.0 mL	1	1
K1350, Элюирующий буфер / Elution Buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.5), 10 mL	1	1

Хранить 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	Набор 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

1. 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.
2. 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*

MAG A прогрейте их в термостате до температуры не выше +50°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.

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

1. 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 B	500 мкл
Elution	4	Стандартный	Элюирующий буфер	90 мкл
Tip Comb	5	Стандартный	Поместите гребенку наконечников в планшет	

2. Тщательно ресуспендируйте суспензию магнитных частиц на вортексе.
3. 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.
4. Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы К. Внесите по 30 мкл смеси в лунки планшета (с глубокими лунками).
5. 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:

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

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

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 суспензии магнитных частиц + 10 мкл раствора протеиназы К.
3. 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), ИЛИ
 - При работе со стрипами для KingFisher™ mL: пипетированием, после чего инкубируйте 2 минуты при комнатной температуре.
6. Добавьте в лунки по 700 мкл *Лизирующего раствора ВВ*.
7. Добавьте *Промывочный раствор MAG 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.

KingFisher™ Duo Prime

ID ряда	Ряд в планшете	Тип планшета	Реагент	Объем на лунку
---------	----------------	--------------	---------	----------------

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

KingFisher™ mL

ID позиции	Позиция стрипа в приборе	Лунка	Реагент	Объем на лунку
Sample	1	Стандартная	Образец (полученный в п.6)	930 мкл
Wash 1	2		Промывочный раствор MAG A	500 мкл
Wash 2	3		Промывочный раствор B	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°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*.
3. Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы К. Внесите по 30 мкл смеси в отдельные пробирки, совместимые с магнитным штативом.
4. Добавьте по 200 мкл образца цельной крови/соскоба эпителия (см. раздел Подготовка образцов) в пробирку со смесью магнитных частиц и протеиназы К.
5. 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.
7. Поместите пробирки в магнитный штатив. Подождите, пока магнитные частицы полностью перейдут в осадок. Тщательно удалите супернатант (например, с помощью дозатора).

8. Добавьте 500 мкл *Промывочного раствора MAG A*, тщательно перемешайте на вортексе или пипетированием. Поместите пробирки в магнитный штатив, после осаждения частиц удалите супернатант.
9. Добавьте 500 мкл *Промывочного раствора B*, тщательно перемешайте на вортексе или пипетированием. Поместите пробирки в магнитный штатив, после осаждения частиц удалите супернатант.
10. 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°C.



22.09.509-QM
Issued by INSPECT



www.lumiprobe.com

