



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

Lumiprobe Corporation. All rights reserved.

## Contents

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

# Инструкция к набору LumiMag® BB для выделения ДНК на магнитных частицах из цельной крови и букального 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 $\mu$ L	1	—
22850, Протеиназа K / Proteinase K (лиофилизованная), 10 mg	1	—
B3850, Буфер для растворения протеиназы K / Proteinase K Dilution Buffer, 600 $\mu$ L	1	—
F4150, Лизирующий раствор BB / Lysis Solution BB, 4 mL	2	—
G6450, Промывочный раствор MAG A / Wash Solution MAG A (с GuHCl), 5 mL	1	—
C1715, Магнитные частицы / Magnetic Beads (100 мг/мл), 1 mL	—	2

62850, Протеиназа K / Proteinase K (лиофилизованная), 100 mg	—	1
D3850, Буфер для растворения протеиназы K / Proteinase K Dilution Buffer, 1200 $\mu$ L	—	1
P4150, Лизирующий раствор BB / Lysis Solution BB, 35 mL	—	2
S6450, Промывочный раствор MAG A / Wash Solution MAG A (c GuHCl), 50 mL	—	1
K2250, Промывочный раствор B / Wash Solution B (концентрат 5x для разбавления 96% этанолом), 10.0 mL	1	1
K1350, Элюирирующий буфер / Elution Buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.5), 10 mL	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 эпендорф объемом 1,5 мл (2 пробирки для выделения ДНК из 1 образца)
- 96% этанол
- Натрий-fosфатный буфер (PBS) для выделения ДНК из сосков 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
<b>KingFisher™ Duo Prime</b>	
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

<b>KingFisher™ mL</b>	
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% этианолом (к указанному на банке объему концентрата добавьте 4 объема 96% этианола), поставьте отметку о добавлении этианола на крышке.
2. Добавьте 1 мл *буфера для растворения протеиназы К* в пробирку с лиофилизированной 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

- 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	

- Тщательно ресуспендируйте суспензию магнитных частиц на вортексе.
- В отдельной пробирке приготовьте смесь магнитных частиц с раствором протеиназы K по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл суспензии магнитных частиц + 10 мкл раствора протеиназы K.
- Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы K. 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 K.
- 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 BB*.
8. Переходите к процедуре автоматической обработки образцов на приборе. Для этого выберите соответствующую программу на приборе и запустите ее.

Используйте программу MagMAX\_CORE:

<b>Название прибора</b>	<b>Название программы с нагревом</b>	<b>Название программы без нагрева (оpционально)</b>
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 K по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл суспензии магнитных частиц + 10 мкл раствора протеиназы K.
  3. Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы K. Внесите по 30 мкл смеси в лунки планшета/стрипа.
  4. Добавьте по 200 мкл образца цельной крови/соксока эпителия (см. раздел Подготовка образцов) к смеси магнитных частиц и протеиназы K.
  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 BB.
  7. Добавьте Промывочный раствор MAG A, Промывочный раствор B, 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		Образец (полученный в п.6)	930 мкл
Wash 1	2	Стандартная	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

- Тщательно ресуспендируйте суспензию магнитных частиц на вортексе.
- В отдельной пробирке приготовьте смесь магнитных частиц с раствором протеиназы K по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл магнитных частиц + 10 мкл раствора протеиназы K.
- Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы K. 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 K.
- Тщательно перемешайте содержимое пробирки на вортексе. Инкубируйте 2 минуты при комнатной температуре.
- Добавьте в каждую пробирку 700 мкл *Лизирующего раствора BB*. Тщательно перемешайте на вортексе.
- 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.

Ver. MJ3PG  
#5555M



22.09.509-QM  
Issued by INSPECT



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

