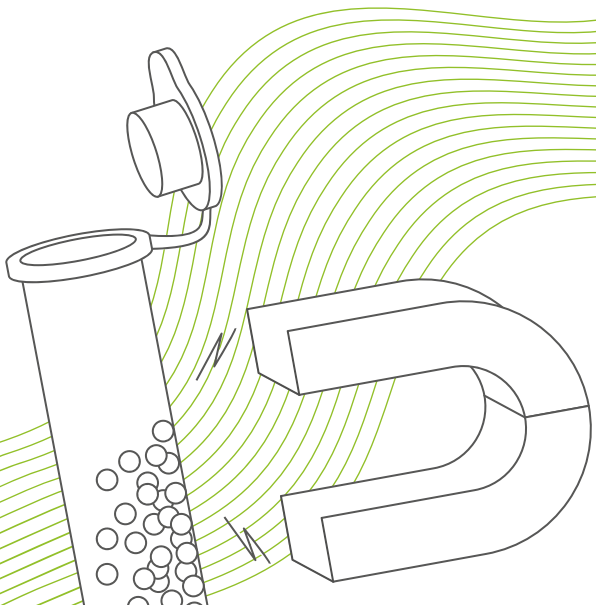
Lumiprobe
Life science solutions



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

Lumiprobe Corporation. All rights reserved.

## Contents

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

RU

# 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<br>10 minipreps | 31753<br>100 minipreps |
| B1715, Магнитные шарики (100 мг/мл), 200 uL | 1 | — |
| 22850, Протеиназа K / Proteinase K (лиофилизованная), 10 mg | 1 | — |
| B3850, Буфер для растворения протеиназы K / 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 (с GuHCl), 5 mL | 1 | — |
| C1715, Магнитные шарики (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 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 5x для разбавления 96% этанолом), 10.0 mL | 1 | 1 |
| K1350, Элюирующий буфер / Elution Buffer (10 мМ 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 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 B* 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 K* в пробирку с лиофилизованной *протеиназой K*, тщательно перемешайте, сбросьте капли центрифугированием.

   *! Раствор протеиназы K после приготовления хранить в морозилке при -20°C.*
3. При наличии осадка в *лизирующем растворе BB* 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 K по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл суспензии *магнитных частиц* + 10 мкл раствора *протеиназы K*.
4. Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы K. 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 K.
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 BB*.
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 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/соскоба 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 | С глубокими лунками | Образец (полученный в п.6) | 930 мкл |
| Wash 1 | B | | 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 K по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл *магнитных частиц* + 10 мкл раствора *протеиназы K*.
3. Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы K. 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 K.
5. Тщательно перемешайте содержимое пробирки на вортексе. Инкубируйте 2 минуты при комнатной температуре.
6. Добавьте в каждую пробирку 700 мкл *Лизирующего раствора BB*. 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.

Ver. MJ3PG
#5555M

22.09.509-QM
Issued by INSPECT

www.lumiprobe.com