

Instrukcja

MagnifiQ™ Genomic DNA reagents and consumables kit

Zestaw odczynników oraz elementów zużywalnych do samodzielnego napełniania płytek przeznaczony do zautomatyzowanej, magnetycznej izolacji genomowego DNA z wielu materiałów.

numer katalogowy	wielkość	kompatybilne urządzenia*
604D-16U-64	64 izolacje	Auto-Pure 32A
604D-16V-64	64 izolacje	Auto-Pure Mini
604D-16U-256	256 izolacji	Auto-Pure 32A
604D-16V-256	256 izolacji	Auto-Pure Mini
604D-96V-960	960 izolacji	Auto-Pure 96

* Kompatybilne urządzenia

Zestaw został przetestowany z określonymi urządzeniami do izolacji Allsheng. Nie wyklucza to możliwości jego działania z innymi urządzeniami. Jeżeli Twoje urządzenie nie jest wymienione, skontaktuj się z nami (info@aabiot.com), a pomożemy Ci określić czy zestaw będzie z nim współpracował.

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Spis treści

Zalety	3
Materiał wyjściowy	3
Specyfikacja	3
Opis	3
Skład	4
Zestaw odczynników	4
Zestawy elementów plastikowych	4
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	5
Przygotowanie płytek	6
Format 16 próbek na płytkę	6
Format 96 próbek na płytkę	7
Przygotowanie materiału	8
Probówki zamykane 1,5 ml	8
Bakterie G-, G+ (hodowle)	8
Drożdże (hodowle)	9
Hodowle komórkowe	10
Krew świeża lub mrożona, osocze, surowica	10
Odchody (mikrobiom, w tym bakterie G-, G+)	11
Odchody (przechowywane w roztworze zabezpieczającym StoolSave™DNA Protection kit)	12
Tkanki Zwierzęce	13
Wymazy mokre	13
Wymazy suche	14
Płytki 96-dołkowa 2,2 ml	14
Bakterie G-, G+ (hodowle)	14
Drożdże (hodowle)	15
Hodowle komórkowe	16
Krew świeża lub mrożona, osocze, surowica	16
Tkanki Zwierzęce	17
Wymazy mokre	18
Wymazy suche	18
Protokół	19
Pliki z protokołami	19
Format 16 próbek na płytkę	20
Format 96 próbek na płytkę	21
Informacje bezpieczeństwa	22

Zalety

- Zautomatyzowana, szybka izolacja.
- Pozwala na jednoczesną izolację DNA z różnych materiałów podczas pojedynczego cyklu pracy urządzenia.

Materiał wyjściowy

rodzaj materiału	wielkość próbki
Bakterie G-, G+ (hodowle)	do 2×10^8
Drożdże (hodowle)	do 1 ml
Hodowle komórkowe	do 1×10^6
Krew świeża lub mrożona, osocze, surowica	do 200 μ l
Odchody	20 - 50 mg
Odchody (próbka przechowywana w roztworze zabezpieczającym)	250 - 500 μ l
Tkanki zwierzęce	do 20 mg
Wymazy	1 szt.

Specyfikacja

czas trwania procedury izolacji	~ 30 min.
objętość elucji	50 - 100 μ l
roztwór elucyjny	bufor Tris
pojemność wiązania	30 μ g DNA
zastosowanie wyizolowanego materiału	qPCR, RT-qPCR, sekwencjonowanie

Opis

Zestaw **MagnifiQ™ Genomic DNA reagents and consumables kit** przeznaczony jest do izolacji kwasów nukleinowych z różnego rodzaju materiałów biologicznych. Zawiera odczynniki oraz odpowiednie elementy zużywalne do samodzielnego napełniania płytek. Wyizolowany materiał doskonale nadaje się do dalszych analiz i testów metodami qPCR i RT-PCR oraz do sekwencjonowania.

Produkty z serii **MagnifiQ™** bazują na zautomatyzowanej izolacji kwasów nukleinowych z wykorzystaniem drobinek magnetycznych. Jest to rozwiązanie znacznie skracające czas pracy oraz zmniejszające ryzyko popełnienia błędów w porównaniu do metod manualnych.

Skład

Zestaw odczynników

składnik	64 izolacje		256 izolacji		960 izolacji		przechowywanie
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	
MQBG mieszanina wiążąca	40 ml	K-MQBG-40	155 ml	K-MQBG-155	580 ml	K-MQBG-580	15-25 °C
A1WI roztwór płuczący	55 ml	K-A1WI-55	225 ml	K-A1WI-225	845 ml	K-A1WI-845	15-25 °C
bufor Tris	25 ml	K-TRIS-25	85 ml	K-TRIS-85	320 ml	K-TRIS-320	15-25 °C
bufor LSDE	35 ml	K-LSDE-35	140 ml	K-LSDE-140	530 ml	K-LSDE-530	15-25 °C
bufor LTE 2X	15 ml	K-LTE2X-15	55 ml	K-LTE2X-55	210 ml	K-LTE2X-210	15-25 °C
Proteinaza K	3 ml	K-PRK-3	12 ml	K-PRK-12	42 ml	K-PRK-42	4-8 °C*

* możliwość przechowywania w temp. 15-25 °C do 12 miesięcy

Zestawy elementów plastikowych

składnik	604D-16U-64		604D-16U-256		przechowywanie
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	
płytki 2,2 ml	4 szt.	K-P96U22	16 szt.	K-P96U22	15-25 °C
grzebień 8	4 x 2 szt.	K-C8U-2	16 x 2 szt.	K-C8U-2	15-25 °C
folia zabezpieczająca	4 szt.	K-MQF-4	16 szt.	K-MQF-16	15-25 °C

składnik	604D-16V-64		604D-16V-256		przechowywanie
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	
płytki 2,2 ml	4 szt.	K-P96V22	16 szt.	K-P96V22	15-25 °C
grzebień 8	4 x 2 szt.	K-C8U-2	16 x 2 szt.	K-C8U-2	15-25 °C
folia zabezpieczająca	4 szt.	K-MQF-4	16 szt.	K-MQF-16	15-25 °C

604D-96V-960

składnik	ilość	nr kat.	przechowywanie
CP - płytka do grzebień	1 szt.	K-P96V22C	15-25 °C
płytko 2,2 ml	50 szt.	K-P96V22	15-25 °C
płytko 0,5 ml	2 x 5 szt.	K-P96V05-5	15-25 °C
grzebień 96	5 x 2 szt.	K-C96V-2	15-25 °C
folia zabezpieczająca	10 szt.	K-MQF-10	15-25 °C

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- pipety automatyczne
- końcówki do pipety
- 80% etanol (1,6 ml na próbkę)

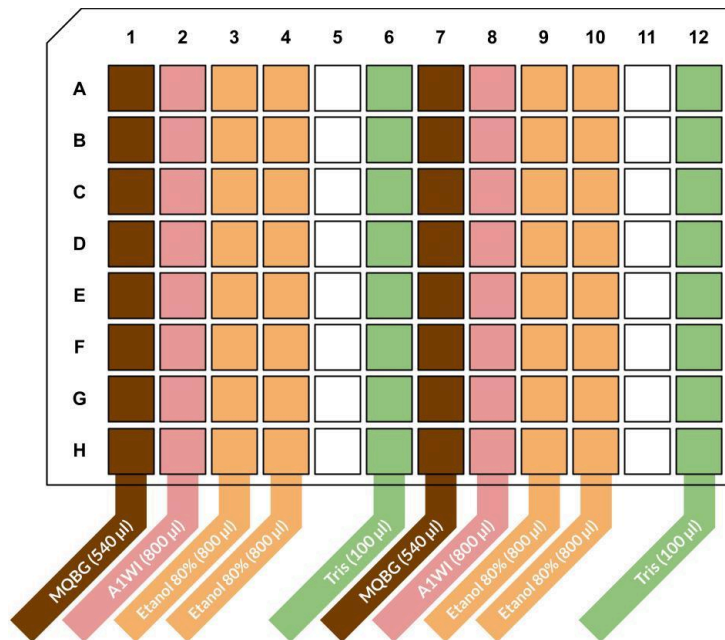
Opcjonalne

- RNAza (10 µl na próbkę), [nr.kat. 1006-10](#)
- probówki 1,5 ml typu Eppendorf (do lizy próbek)
- płytki 96-dołkowe o pojemności 2,2 ml (do lizy próbek)
- wirówka / wirówka z rotorem uchylnym do płytek 96-dołkowych
- termoblok / termoblok z przystawką na płytkę 96-dołkową
- folie zabezpieczające do płytek 96-dołkowych
- worteks

Przygotowanie płytek

Format 16 próbek na płytkę

Rozporzczuj buforory na płytkę 2,2 ml według poniższego schematu:



Format 96 próbek na płytce

Rozporzczuj bufony na płytce i opisz je według poniższego schematu:

"SP" (Płytką 2.2 ml)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

MQBG (540 µl)

"WP 1" (Płytką 2.2 ml)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

A1WI (800 µl)

"WP 2-3" (Płytką 2.2 ml)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Etanol 80% (800 µl)

"WP 2-3" (Płytką 2.2 ml)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Etanol 80% (800 µl)

"EP" (Płytką 0.5 ml)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Tris (100 µl)

Przygotowanie materiału

Probówki zamykane 1,5 ml

Bakterie G-, G+ (hodowle)

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

- **BacBreaker** mieszanina enzymów lizujących do bakterii (20 µl na próbkę), nr kat. K-BACB-15A
- bufor **BS** (200 µl buforu na próbkę), [nr kat. K-BS-30](#)

Opcjonalne:

- **Lizostafyna** (5 µl na próbkę), [nr kat. 1007-3](#); W przypadku lizy bakterii z rodzaju *Staphylococcus* zalecamy traktowanie lizostafyną.

1. Przenieś próbkę hodowli bakteryjnej zawierającą 2×10^8 bakterii do probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie). Wiruj przez **3 min** przy **10 000 RPM**. Usuń supernatant.
2. Osad zawieś w **200 µl** buforu **BS**.
3. Dodaj **20 µl** mieszaniny enzymów **BacBreaker**.

Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbki **10 µl** RNAzy ([nr kat. 1006-10](#)).
Uwaga. W przypadku lizy bakterii z rodzaju *Staphylococcus* dodaj **5 µl** lizostafyny.
4. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **10 min** w temp. **50 °C**.

Uwaga. W przypadku lizy bakterii z rodzaju *Staphylococcus* inkubuj przez 10 min w temp. 37 °C.
5. Dodaj **200 µl** buforu **LTE 2X** i **20 µl** **Proteinazy K**.
6. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **10 min** w temp. **50 °C** z funkcją wytrząsania.

Informacja. W przypadku braku funkcji wytrząsania, próbkę mieszaj kilkakrotnie przez odwracanie probówki.
7. Próbkę wiruj **2 min** przy **10 000 RPM**.
8. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu.

Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Drożdże (hodowle)

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

- Litykaza (10 µl na próbkę), [nr kat. 1018-10](#)
- DTT RTU (10 µl 1M roztworu na próbkę), [nr kat. 2010-10P](#)
- bufor BS (200 µl buforu na próbkę), [nr kat. K-BS-250](#)

Przed rozpoczęciem procesu należy przygotować roztwór **1M DTT**. W tym celu do fiołki z DTT należy dodać 1 ml jałowej wody (nie ma w zestawie) i proszek całkowicie rozpuścić. Roztwór należy przechowywać w temp. -20 °C.

1. Przenieś **1 ml** próbki do zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).
Wiruj przez **3 min** przy **10 000 RPM**. Usuń supernatant.
2. Osad zawieś w **200 µl** buforu BS.
3. Dodaj **10 µl litykazy** oraz **10 µl 1M DTT**.
Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbki **10 µl RNAzy** ([nr kat. 1006-10](#)).
4. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **15 min** w temp. **37 °C**.
5. Dodaj **200 µl** buforu LTE 2X i **20 µl** Proteinyzy K.
6. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **10 min** w temp. **50 °C** z funkcją wytrząsania.
Informacja. W przypadku braku funkcji wytrząsania, próbkę mieszaj kilkakrotnie przez odwracanie probówki.
7. Próbkę wiruj przez **2 min** przy **10 000 RPM**.
8. Uwaga. W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu.
Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Hodowle komórkowe

1. Przenieś próbkę hodowli komórkowej zawierającą **1 x 10⁶** komórek do próbówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).
Wiruj przez **3 min** przy **10 000 RPM**. Usuń supernatant.
2. Osad zawieś w **200 µl** buforu **Tris**.
3. Dodaj **200 µl** buforu **LTE 2X** i **20 µl** **Proteinazy K**.
Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbki **10 µl** **RNAzy** ([nr kat. 1006-10](#)).
4. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **10 min** w temp. **50 °C** z funkcją wytrząsania.
Informacja. W przypadku braku funkcji wytrząsania, próbkę mieszaj kilkakrotnie przez odwracanie próbówki.
5. Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Krew świeża lub mrożona, osocze, surowica

1. Przenieś **200 µl** próbkę do zamykanej próbówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).
2. Dodaj **200 µl** buforu **LTE 2X** i **20 µl** **Proteinazy K**.
3. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **10 min** w temp. **50 °C** z funkcją wytrząsania.
Informacja. W przypadku braku funkcji wytrząsania, próbkę mieszaj kilkakrotnie przez odwracanie próbówki.
4. Po inkubacji próbkę wiruj przez **20 s** przy **10 000 RPM**.
Informacja. Wirowanie ma na celu usunięcie resztek materiału z wieczek próbówki oraz osadzenie na dnie próbówki resztek materiału niezliwowanego.
5. Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Odchody (mikrobiom, w tym bakterie G-, G+)

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

- probówki z kuleczkami cyrkoniowymi (2 ml probówka z mieszaną kuleczek na próbkę), nr kat. K-PKCM-50
- roztwór precypitujący L3P (100 µl na próbkę), nr kat. K-L3P-60
- bufor LSDE (dodatkowe 500 µl buforu na próbkę), nr kat. K-LSDE-500
- antyspiniacz (10 µl na próbkę), nr kat. K-AYS-1

Przed rozpoczęciem procesu, należy zmieszać bufor LSDE z antyspiniaczem. Przygotuj mieszaninę LSDE-antyspiniacz przez zmieszanie 1 ml buforu LSDE z 10 µl antyspiniacza/ilość na 1 próbkę. Przygotuj objętość wystarczającą dla ilości izolowanych próbek z 10% nadmiarem. Przed użyciem wymieszaj.

1. Przenieś 20-50 mg próbki kału do 2 ml zakręcanej probówki zawierającej mieszaną kuleczek. Dodaj 1 ml buforu LSDE-antyspiniacz.
2. **Opcja A:** Liza mechaniczna z wykorzystaniem homogenizatora. Umieść probówki z próbkami w urządzeniu Beadbeater. Ustaw następujący program: 3 x cykl po 20 s z maksymalną siłą, przerwa na chłodzenie 2 min.
Opcja B: Umieść probówki z próbkami w inkubatorze z funkcją mieszania. Mieszaj 30 min w temp. pokojowej przy 2000 RPM.
3. Zwiruj próbkę przez 5 min przy 10 000 RPM.
4. Przenieś 500 µl supernatantu do nowej zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).
5. Dodaj 20 µl Proteinazy K.
6. Wymieszaj przez worteksowanie 10 s i inkubuj przez 15 min w temp. 50 °C z funkcją wytrząsania 1400 RPM.
Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbki 10 µl RNAzy ([nr kat. 1006-10](#)) i inkubuj przez 10 min w temp. 37 °C z funkcją wytrząsania 1400 RPM.
7. Dodaj 100 µl roztworu precypitującego L3P. Zamknij probówkę i wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie.
8. Umieść w lodzie na 3 min.
9. Próbkę wiruj przez 5 min przy 10 000 RPM.
10. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu.

Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji.](#)

Odchody (przechowywane w roztworze zabezpieczającym StoolSave™ DNA Protection kit)

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

W przypadku próbek odchodów przechowywanych w roztworze zabezpieczającym **StoolSave™ DNA Protection kit** (nr kat. 006-10):

- próbki z kuleczkami cyrkonowymi (2 ml próbka z mieszaną kuleczek na próbkę), nr kat. K-PKCM-50
- roztwór precypitujący **L3P** (100 µl na próbkę), nr kat. K-L3P-60

W przypadku próbek odchodów przechowywanych w innym roztworze zabezpieczającym:

- próbki z kuleczkami cyrkonowymi (2 ml próbka z mieszaną kuleczek na próbkę), nr kat. K-PKCM-50
- roztwór precypitujący **L3P** (100 µl na próbkę), nr kat. K-L3P-60
- bufor **LSDE** (dodatkowe 250 µl buforu na próbkę), nr kat. K-LSDE-500
- antyspiniacz (10 µl na próbkę), nr kat. K-AYS-1

1. Odchody przechowywane w roztworze zabezpieczającym StoolSave™ DNA Protection kit:

Przenieś **500 µl** próbki kału zawieszanej w roztworze zabezpieczającym do 2 ml zakręcanej próbki zawierającej mieszaną kuleczek.

Dodaj **500 µl** buforu **LSDE**.

Odchody przechowywane w innym roztworze zabezpieczającym:

Przed rozpoczęciem procesu, należy zmieszać bufor **LSDE** z **antyspiniaczem**. Przygotuj mieszaninę **LSDE-antyspiniacz** przez zmieszanie **750 µl** buforu **LSDE** z **10 µl antyspiniacza**/ilość na 1 próbkę. Przygotuj objętość wystarczającą dla ilości izolowanych próbek z 10% nadmiarem. Przed użyciem wymieszaj.

Przenieś **250 µl** próbki kału zawieszanej w roztworze zabezpieczającym do 2 ml zakręcanej próbki zawierającej mieszaną kuleczek.

Dodaj **750 µl** buforu **LSDE-antyspiniacz**.

2. **Opcja A:** Liza mechaniczna z wykorzystaniem homogenizatora. Umieść próbki z próbkami w urządzeniu Beadbeater. Ustaw następujący program: **3 x cykl po 20 s z maksymalną siłą**, przerwa na chłodzenie **1 min**.

Opcja B: Umieść próbki z próbkami w inkubatorze z funkcją mieszania. Mieszaj **30 min w temp. pokojowej** przy **2000 RPM**.

3. Zwiruj próbkę przez **5 min** przy **10 000 RPM**.

4. Przenieś **500 µl** supernatantu do nowej zamykanej próbki 1,5 ml (nie ma w zestawie).

5. Dodaj **20 µl** **Proteinazy K**.
6. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **15 min** w temp. **50 °C** z funkcją wytrząsania **1400 RPM**.

Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbki **10 µl RNAzy** ([nr kat. 1006-10](#)) i inkubuj przez **10 min** w temp. **37 °C** z funkcją wytrząsania **1400 RPM**.
7. Dodaj **100 µl** roztworu precypitującego **L3P**. Zamknij probówkę i wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie.
8. Umieść w lodzie na **3 min**.
9. Próbkę wiruj przez **5 min** przy **10 000 RPM**.
10. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu.

Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Tkanki Zwierzęce

1. Przenieś **do 20 mg** rozdrobnionej tkanki zwierzęcej do zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).
Informacja. Tkankę należy rozdrobnić przez pocięcie na kawałki lub homogenizację.
2. Dodaj **400 µl** buforu **LSDE** oraz **40 µl** **Proteinazy K**.
Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbki **10 µl RNAzy** ([nr kat. 1006-10](#)).
3. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj do całkowitej lizy materiału w temp. **50 °C** z funkcją wytrząsania.
Informacja. Etap lizy może trwać **od 1 do 12 godzin**. W celu uzyskania maksymalnej wydajności izolacji, lizę należy prowadzić do całkowitego rozpuszczenia tkanki w roztworze lizującym.
Informacja. W przypadku braku funkcji wytrząsania, próbkę mieszaj kilkakrotnie przez odwracanie probówki.
4. Po inkubacji próbkę wiruj przez **2 min** przy **10 000 RPM**.
5. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu.

Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Wymazy mokre

Wymazy zawieszane w buforach do przechowywania próbek nie wymagają dodatkowego przygotowania materiału.

Wymazy suche

1. Złam lub odetnij część wymazówki z pobraną próbką i umieść ją w zamykanej probówce 1,5 ml (nie ma w zestawie).
2. Do każdej z próbek dodaj **500 µl** buforu **LSDE** i **20 µl** **Proteinazy K**.
Informacja. Wymazówka powinna być zanurzona w mieszaninie lizującej.
Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbki **10 µl** **RNAzy** ([nr kat. 1006-10](#)).
3. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **10 min** w temp. **50 °C** z funkcją wytrząsania.
Informacja. W przypadku braku funkcji wytrząsania, próbkę mieszaj kilkakrotnie przez odwracanie probówki.
4. **Uwaga.** Do procesu izolacji pobierz całą objętość próbki, jednak nie więcej niż 400 µl.
 Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Płytki 96-dołkowa 2,2 ml

Bakterie G-, G+ (hodowle)

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

- **BacBreaker** mieszanina enzymów lizujących do bakterii (20 µl na próbkę), nr kat. K-BACB-15A
- bufor **BS** (200 µl buforu na próbkę), [nr kat. K-BS-250](#)

Opcjonalne:

- **Lizostafyna** (5 µl na próbkę), [nr kat. 1007-3](#); W przypadku lizy bakterii z rodzaju *Staphylococcus* zalecamy traktowanie lizostafyną.

1. Przenieś próbki hodowli bakteryjnych zawierające **2 x 10⁸** bakterii do dołki na płytce 96-dołkowej (nie ma w zestawie).
 Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i wiruj przez **10 min** przy **1000 x g**.
 Usuń folię zabezpieczającą.
 Ostrożnie usuń supernatant przy pomocy pipety.
2. Osady zawieś w **200 µl** buforu **BS**.
3. Do studzienek dodaj po **20 µl** mieszaniny enzymów **BacBreaker**.
Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbek po **10 µl** **RNAzy** ([nr kat. 1006-10](#)).

Uwaga. W przypadku lizy bakterii z rodzaju *Staphylococcus* dodaj **5 µl lizostafiny**.

- Zawartość studzienek wymieszaj przez pipetowanie.
Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i inkubuj przez **20 min** w temp. **55 °C** przy prędkości ciągłego wytrząsania **1600 RPM**.
Usuń folię zabezpieczającą.

Uwaga. W przypadku lizy bakterii z rodzaju *Staphylococcus* inkubuj przez 20 min w temp. 42 °C.

- Do studzienek dodaj po **200 µl** buforu **LTE 2X** i **20 µl** **Proteinazy K**.
Zawartość studzienek wymieszaj przez pipetowanie.

- Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i inkubuj przez **20 min** w temp. **55 °C** przy prędkości ciągłego wytrząsania **1600 RPM**.

- Wiruj przez **10 minut** przy **1000 x g**.

- Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu.

Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Drożdże (hodowle)

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

- Litykaza (10 µl na próbkę), [nr kat. 1018-10](#)
- DTT RTU (10 µl 1M roztworu na próbkę), [nr kat. 2010-10P](#)
- bufor **BS** (200 µl buforu na próbkę), [nr kat. K-BS-250](#)

- Przenieś **1 ml** próbki do studzienek na płytce 96-dołkowej (nie ma w zestawie).
Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i wiruj przez **10 min** przy **1000 x g**
Usuń folię zabezpieczającą.
Ostrożnie usuń supernatant przy pomocy pipety.

- Osady zawieś w **200 µl** buforu **BS**.

- Do studzienek dodaj po **10 µl** litykazy oraz po **10 µl 1M DTT**.

Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbek po **10 µl** RNAzy ([nr kat. 1006-10](#)).

- Zawartość studzienek wymieszaj przez pipetowanie.

Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i inkubuj przez **20 minut** w temp. **37 °C** przy prędkości ciągłego wytrząsania **1600 RPM**.

Usuń folię zabezpieczającą.

- Do studzienek dodaj po **200 µl** buforu **LTE 2X** i **20 µl** **Proteinazy K**. Zawartość studzienek wymieszaj przez pipetowanie.

- Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i inkubuj przez **20 min** w temp. **55 °C** przy prędkości ciągłego wytrząsania **1600 RPM**.

- Wiruj przez **10 min** przy **1000 x g**.

Informacja. Wirowanie ma na celu osadzenie na dnie studzienki resztek materiału niezluzowanego.

- Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu.

Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Hodowle komórkowe

- Przenieś próbki hodowli komórkowych zawierające **1 x 10⁶** komórek do studzienek na płytce 96-dołkowej (nie ma w zestawie). Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i wiruj przez **10 min** przy **1000 x g**. Usuń folię zabezpieczającą. Ostrożnie usuń supernatant przy pomocy pipety.

- Osady zawieś w **200 µl** buforu **Tris**.

Informacja. Osady należy zawiesić w buforze przez dokładne pipetowanie.

- Do studzienek dodaj po **200 µl** buforu **LTE 2X** i **20 µl** **Proteinazy K**.

Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbek po **10 µl** RNAzy ([nr kat. 1006-10](#)).

- Zawartość studzienek wymieszaj przez pipetowanie. Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i inkubuj przez **20 min** w temp. **55 °C** przy prędkości ciągłego wytrząsania **1600 RPM**.

- Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Krew świeża lub mrożona, osocze, surowica

- Przenieś **200 µl** próbki do studzienek na płytce 96-dołkowej (nie ma w zestawie).

2. Do studzienek dodaj po **200 µl** buforu **LTE 2X** i **20 µl** **Proteinazy K**. Zawartość studzienek wymieszaj przez pipetowanie.
3. Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i inkubuj przez **20 min** w temp. **55 °C** przy prędkości ciągłego wytrząsania **1600 RPM**.
4. Wiruj przez **1 min** przy **1000 x g**.
Informacja. Wirowanie ma na celu usunięcie resztek materiału z wieczek probówki oraz osadzenie na dnie probówki resztek materiału niezliwowanego.
5. Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Tkanki Zwierzęce

1. Przenieś **do 20 mg** rozdrobnionej tkanki zwierzęcej do studzienek na płytce 96-dołkowej (nie ma w zestawie).
Informacja. Tkanekę należy rozdrobnić przez pocięcie na kawałki lub homogenizację.
2. Do studzienek dodaj po **400 µl** buforu **LSDE** oraz **40 µl** **Proteinazy K**.
Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbek po **10 µl** **RNAzy** ([nr kat. 1006-10](#)).
3. Zawartość studzienek dokładnie wymieszaj przez pipetowanie. Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i inkubuj do całkowitej lizy materiału w temp. **55 °C** przy prędkości ciągłego wytrząsania **1600 RPM**.
Informacja. Etap lizy może trwać **od 1 do 12 godzin**. W celu uzyskania maksymalnej wydajności izolacji, lizę należy prowadzić do całkowitego rozpuszczenia tkanki w roztworze lizującym.
4. Wiruj przez **10 min** przy **1000 x g**.
5. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu.
Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Wymazy mokre


Wymazy zawieszono w buforach do przechowywania próbek nie wymagają dodatkowego przygotowania materiału.

Wymazy suche

1. Złam lub odetnij części wymazówek z pobranymi próbkami umieść je w studzienkach na płycie 96-dołkowej (nie ma w zestawie).
3. Do studzienek dodaj **500 µl** buforu **LSDE** i **20 µl** **Proteinazy K**.
Informacja. Wymazówka z pobrana próbką powinna być całkowicie zanurzona w mieszaninie lizującej.
Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbek po **10 µl** **RNAzy** ([nr kat. 1006-10](#)).
4. Zawartość studzienek wymieszaj przez pipetowanie.
Zaklej płytkę folią zabezpieczającą i inkubuj przez **20 min** w temp. **55 °C** przy prędkości ciągłego wytrząsania **1600 RPM**.
5. **Uwaga.** Do procesu izolacji pobierz całą objętość próbki, jednak nie więcej niż 400 µl.
Przejdź do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Protokół

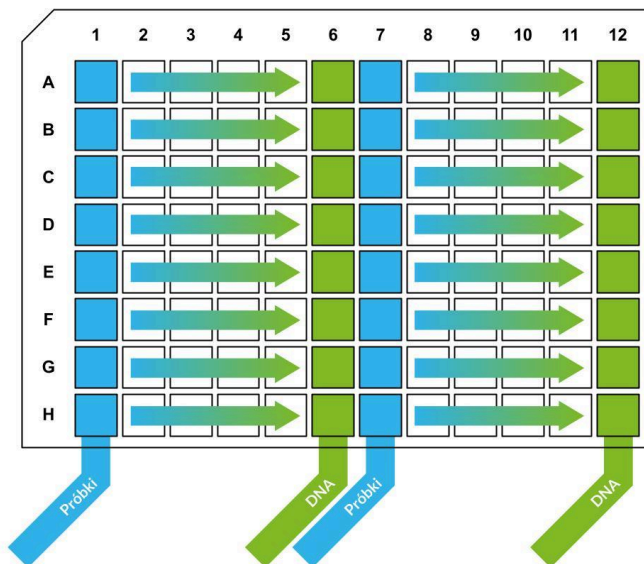
Pliki z protokołami

urządzenie	nazwa protokołu	plik z protokołem	instalacja
Auto-Pure Mini	MQ-UND-MI	abiot.com/protocols/magnifiq/MI/MQ-UND-MI.txt	<ol style="list-style-type: none"> 1. Na dysku USB utwórz folder "items" i skopiuj do niego plik z protokołem. 2. Włóż dysk USB do portu USB w urządzeniu. 3. Na ekranie urządzenia przejdź do opcji Settings > System > Transfer > Import. 4. Wybierz protokół i naciśnij "Import".
Auto-Pure Mini (QR code)	MQ-UND-MI		<ol style="list-style-type: none"> 1. Na ekranie urządzenia przejdź do opcji Run > ☰ > 📄 2. Zeskanuj kod QR za pomocą skanera.
Auto-Pure 32A	MQ-UND-32A	abiot.com/protocols/magnifiq/32A/MQ-UND-32A.txt	<ol style="list-style-type: none"> 1. Na dysku USB utwórz folder "items" i skopiuj do niego plik z protokołem. 2. Włóż dysk USB do portu USB w urządzeniu. 3. Na ekranie urządzenia przejdź do opcji Settings > Im.&Export > Import. 4. Wybierz protokół i naciśnij "Import".
Auto-Pure 96	MQ-UND-96	abiot.com/protocols/magnifiq/96/MQ-UND-96.txt	<ol style="list-style-type: none"> 1. Na dysku USB utwórz folder "im_export_protocols" i skopiuj do niego plik z protokołem. 2. Włóż dysk USB do portu USB w urządzeniu. 3. Na ekranie urządzenia przejdź do opcji Protocols > Import. 4. Wybierz protokół i naciśnij "Import".
Auto-Pure S32	MQ_UND_S32	abiot.com/protocols/magnifiq/S32/MQ_UND_S32.txt	<ol style="list-style-type: none"> 1. Na dysku USB utwórz folder "im_export_protocols" i skopiuj do niego plik z protokołem. 2. Włóż dysk USB do portu USB w urządzeniu. 3. Na ekranie urządzenia przejdź do opcji Protocols > Import. 4. Wybierz protokół i naciśnij "Import".

Format 16 próbek na płytce

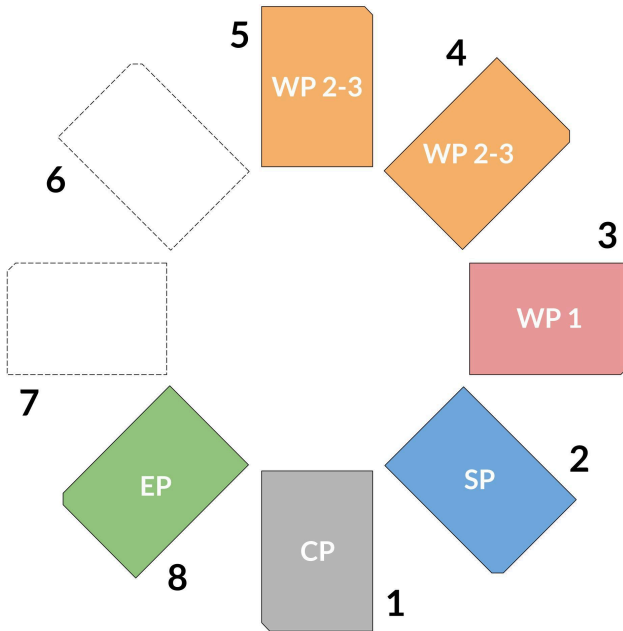
1. Dodaj po **400 µl** uprzednio przygotowanych próbek do studzienek w kolumnach **1 i 7** na **płytkę 2,2 ml**.
2. Umieść jedną lub dwie **płytki 2,2 ml** w urządzeniu do izolacji.
3. Umieść odpowiednią ilość **grzebieni 8** w urządzeniu do izolacji.
4. Uruchoom protokół.
5. Po zakończeniu programu usuń umieszczone w urządzeniu grzebienie a następnie wyjmij płytke **2,2 ml**. Zaklej płytkę folią zabezpieczającą. Oczyszczone DNA znajduje się w kolumnach **6 i 12**.

Informacja. W przypadku dłuższego przechowywania oczyszczonego materiału przenieś go z płytki do odpowiednich probówek i przechowywać w temp. 4 °C.



Format 96 próbek na płytce

1. Dodaj po 400 µl uprzednio przygotowanych próbek do studzienek na płytce **SP**.
2. Umieść **grzebień 96** na płytce **CP**.
3. Utóż płytki na stole roboczym urządzenia do izolacji według poniższego schematu:



4. Uruchom protokół.
5. Po zakończeniu programu wyjmij płytkę **EP** z urządzenia i zaklej ją folią zabezpieczającą. Na płytce znajduje się oczyszczone DNA.
Informacja. W przypadku dłuższego przechowywania oczyszczonego materiału przenieś go z płytki do odpowiednich probówek i przechowuj w temperaturze 4 °C.
6. Wyjmij i wyrzuć pozostałe płytki z wyjątkiem płytki **CP**. Płytkę **CP** można wykorzystywać wielokrotnie.

Informacje bezpieczeństwa



NIEBEZPIECZEŃSTWO

Proteinaza K

H315 Działa drażniąco na skórę.
 H319 Działa drażniąco na oczy.
 H334 Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.
 H335 Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.
 P261 Unikać wdychania pyłu.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.
 P342+P311 W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.



UWAGA

LTE 2X

H302 Działa szkodliwie po połknięciu.
 H315 Działa drażniąco na skórę.
 H319 Działa drażniąco na oczy.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

MQBG mieszanina wiążąca

H302+H312+H332 Działa szkodliwie po połknięciu, w kontakcie ze skórą lub w następstwie wdychania.
 H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
 H412 Działa szkodliwie na organizmy wodne powodując długotrwałe skutki.
 P273 Unikać uwolnienia do środowiska.
 P280 Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
 P301+P312+P330 W przypadku połknięcia: w przypadku złego samopoczucia skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem. Wypłukać usta.
 P303+P361+P353 W przypadku kontaktu z skórą (lub włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłucz skórę wodą/prysznicem.
 P304+P340 W przypadku wdychania: Wyprowadzić osobę na świeże powietrze i zapewnić komfort oddychania. W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

A1W1 roztwór płuczący

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
 H302 Działa szkodliwie po połknięciu.
 H315 Działa drażniąco na skórę.
 H319 Działa drażniąco na oczy.
 H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
 P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu.
 P261 Unikać wdychania par.
 P280 Stosować ochronę oczu/ ochronę twarzy.
 P301+P312+P330 W przypadku połknięcia: W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub z lekarzem. Wypłukać usta.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.
 P337+P313 W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/ zgłosić się pod opiekę lekarza.



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

wersja 2024-2

