

## Instrukcja

# MagnifiQ™ 16 Total RNA Plus instant kit

Uniwersalny zestaw do zautomatyzowanej, magnetycznej izolacji całkowitego RNA w formacie 16 próbek na płytce. Zawiera gotowe do użycia, napełnione odczynnikami płytki oraz wszystkie niezbędne elementy zużywalne.

numer katalogowy	wielkość	kompatybilne urządzenia *
614A-16U-64	64 izolacje	Auto-Pure 32A
614A-16V-64	64 izolacje	Auto-Pure Mini Auto-Pure S32
614A-16U-256	256 izolacji	Auto-Pure 32A
614A-16V-256	256 izolacji	Auto-Pure Mini Auto-Pure S32

#### \* Kompatybilne urządzenia

Zestaw został przetestowany z określonymi urządzeniami do izolacji firmy 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 wchodzi w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu.

# Spis treści

<b>Zalety</b>	<b>3</b>
<b>Materiał wyjściowy</b>	<b>3</b>
<b>Specyfikacja</b>	<b>3</b>
<b>Opis</b>	<b>3</b>
<b>Skład</b>	<b>4</b>
<b>Dodatkowy sprzęt i odczynniki</b>	<b>4</b>
Niezbędne	4
Opcjonalne	4
<b>Ważne informacje</b>	<b>5</b>
<b>Przygotowanie materiału</b>	<b>5</b>
Bakterie G+ (hodowle)	5
Bakterie G- (hodowle)	6
Hodowle komórkowe	6
Krew świeża (nie mrożona)	7
Krew świeża (próbka w PAXgene Blood RNA Tubes*)	8
Tkanki stałe	9
<b>Protokół</b>	<b>10</b>
Pliki z protokołami	10
Protokół izolacji	11
<b>Informacje dodatkowe</b>	<b>12</b>
Przygotowanie materiału na płytce 96-dołkowej	12
<b>Informacje bezpieczeństwa</b>	<b>13</b>

## Zalety

- Nie wymaga wstępnego przygotowania i rozporcjowania buforów. Przygotowane uprzednio próbki nanesz na płytkę i umieść w urządzeniu do izolacji. Po około 30 minutach otrzymasz oczyszczony materiał.
- Pozwala na jednoczesną izolację RNA z różnych materiałów podczas pojedynczego cyklu pracy urządzenia.

## Materiał wyjściowy

rodzaj materiału	wielkość próbki
<a href="#">Bakterie G+ (hodowle)</a>	do $2 \times 10^8$
<a href="#">Bakterie G- (hodowle)</a>	do $2 \times 10^8$
<a href="#">Hodowle komórkowe</a>	do $2 \times 10^6$
<a href="#">Krew świeża (nie mrożona)</a>	do 2,5 ml
<a href="#">Krew świeża (próbka w PAXgene Blood RNA Tubes*)</a>	do 2,5 ml
<a href="#">Tkanki stałe</a>	20 - 50 mg

## Specyfikacja

czas trwania procedury izolacji	~ 30 min
objętość elucji	100 $\mu$ l <sup>1</sup>
roztwór elucyjny	bufor Tris
pojemność wiązania	30 $\mu$ g RNA
zastosowanie wyizolowanego materiału	Odwrotna transkrypcja RT-PCR, sekwencjonowanie transkryptomu

<sup>1</sup> Objętość elucji przygotowana na płytce to 100  $\mu$ l. W celu uzyskania mniejszej objętości elucji odejmij odpowiednią ilość roztworu elucyjnego ze studzienek w kolumnach 6 i 12 na płytce XP-R. Nie zmniejszaj objętości elucji poniżej 50  $\mu$ l.

## Opis

Zestaw **MagnifiQ™ 16 Total RNA Plus instant kit** przeznaczony jest do izolacji całkowitego RNA z różnego rodzaju materiałów biologicznych. Wyizolowany materiał doskonale nadaje się do dalszych analiz i testów metodami RT-PCR i 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 błędu w porównaniu do metod manualnych.

## Skład

składnik	614A-16U-64		614A-16U-256		przechowywanie
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	
XP-R - płytka do izolacji	4 szt.	K-P96U22XR	16 szt.	K-P96U22XR	15-25 °C
Fenzol Plus	35 ml	K-FENP-35	140 ml	K-FENP-140	2-8 °C
woda ultraczysta	15 ml	K-WUP-15	60 ml	K-WUP-60	-20-25 °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	614A-16V-64		614A-16V-256		przechowywanie
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	
XP-R - płytka do izolacji	4 szt.	K-P96V22XR	16 szt.	K-P96V22XR	15-25 °C
Fenzol Plus	35 ml	K-FENP-35	140 ml	K-FENP-140	2-8 °C
woda ultraczysta	15 ml	K-WUP-15	60 ml	K-WUP-60	-20-25 °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

## Dodatkowy sprzęt i odczynniki

### Niezbędne

- probówki zamykane 1,5 ml (do lizy próbek)
- pipety automatyczne
- końcówki do pipet
- wirówka do probówek zamykanych 1,5 ml
- worteks
- termoblok

### Opcjonalne

- płytki 96-dołkowe o pojemności 2,2 ml (do lizy próbek)
- wirówka z rotorem uchylnym do płytek 96-dołkowych
- folia zabezpieczająca (liza na płytkach 96-dołkowych)
- wirówka z rotorem uchylnym (umożliwiająca wirowanie probówek PAXgene Blood RNA - adaptery z okrągłym dnem lub alternatywne typu Falcon 15 ml)

## Ważne informacje

Poniższe protokoły przygotowania materiału dotyczą procedury przeprowadzanej w probówkach zamykanych 1,5 ml. Jeżeli chcesz przygotować materiał na płytce 96-dołkowej patrz w dziale [Informacje dodatkowe](#) na końcu instrukcji.

## Przygotowanie materiału

### Bakterie G+ (hodowle)

#### Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

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

#### Opcjonalnie:

- **Lizostafyna** (20 µl na próbkę) [nr kat. 1007-3](#). W przypadku lizy bakterii z rodzaju *Staphylococcus* zalecamy traktowanie lizostafyną.

1. Przenieś próbkę hodowli bakteryjnej zawierającą  $2 \times 10^8$  bakterii do do zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).  
Wiruj przez **3 min** przy **10 000 RPM**. Usuń supernatant.
2. Osad zawieś w **50 µl wody ultraczystej**.
3. Dodaj **20 µl** mieszaniny enzymów **BacBreaker**.  
**Uwaga.** W przypadku lizy bakterii z rodzaju *Staphylococcus* dodaj **20 µl lizostafiny**.
4. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **10 min** w temp. **37 °C**.
5. Dodaj **500 µl Fenzolu Plus**.
6. Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie probówki i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C**.
7. Dodaj **170 µl wody ultraczystej**.  
Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie probówki.  
**Informacja.** Dodanie wody ma na celu precypitację DNA.
8. Próbkę wiruj **10 min** przy **12 000 RPM**.
9. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu. Należy ostrożnie pobierać nadsącz, aby do kolejnego etapu oczyszczania nie przenieść precypitatu. Krok jest kluczowy dla czystości RNA.  
Przejdź do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

## Bakterie G- (hodowle)

1. Przenieś próbkę hodowli bakteryjnej zawierającą  $2 \times 10^8$  bakterii do do zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).  
Wiruj przez **3 min** przy **10 000 RPM**. Usuń supernatant.
2. Dodaj **500 µl Fenzolu Plus**.
3. Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie probówki i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C**.
4. Dodaj **170 µl wody ultraczystej**.  
Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie probówki.  
  
**Informacja.** Dodanie wody ma na celu precypitację DNA.
5. Próbkę wiruj **10 min** przy **12 000 RPM**.
6. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu. Należy ostrożnie pobierać nadsącz, aby do kolejnego etapu oczyszczania nie przenieść precipitatu. Krok jest kluczowy dla czystości RNA.  
  
Przejdź do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

## Hodowle komórkowe

1. Przenieś próbkę hodowli komórkowej zawierającą  $2 \times 10^6$  komórek do zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).  
Wiruj przez **3 min** przy **10 000 RPM**. Usuń supernatant.
2. Dodaj **500 µl Fenzolu Plus**.
3. Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie probówki i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C**.
4. Dodaj **170 µl wody ultraczystej**.  
Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie probówki.  
  
**Informacja.** Dodanie wody ma na celu precypitację DNA.
5. Próbkę wiruj **10 min** przy **12 000 RPM**.
6. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu. Należy ostrożnie pobierać nadsącz, aby do kolejnego etapu oczyszczania nie przenieść precipitatu. Krok jest kluczowy dla czystości RNA.  
  
Przejdź do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

## Krew świeża (nie mrożona)

### Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

- **RBCL** (maksymalnie 5 ml na próbkę) [nr kat. 213-100](#)

1. Do **maksymalnie 1 ml** krwi dodaj odpowiednią ilość buforu **RBCL** do lizy erytrocytów.

**Uwaga.** Zalecamy użycie 5 objętości RBCL na 1 objętość krwi.

2. Całość wymieszaj i pozostaw **w lodzie na 15 min.**

**Informacja.** Po inkubacji roztwór z mętnego powinien zmienić się na szkarłatnie przezroczysty.

3. Wiruj przez **10 min** przy **3000 x g**.

Usuń supernatant.

4. Dodaj **500 µl Fenozolu Plus**.

5. Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie probówki i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C**.

6. Dodaj **170 µl wody ultraczystej**.

Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie probówki.

**Informacja.** Dodanie wody ma na celu precypitację DNA.

7. Próbkę wiruj **10 min** przy **12 000 RPM**.

8. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu. Należy ostrożnie pobierać nadsącz, aby do kolejnego etapu oczyszczania nie przenieść precipitatu. Krok jest kluczowy dla czystości RNA.

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

## Krew świeża (próbka w PAXgene Blood RNA Tubes\*)

Oczyszczanie całkowitego RNA z 2,5 ml ludzkiej pełnej krwi pobranej do próbki PAXgene Blood RNA Tube zgodnie z instrukcją producenta PAXgene Blood RNA Tubes.

### Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

- woda ultraczysta wolna od nukleaz (4 ml na próbkę) [nr.kat.005-100](#)

\*Paxgene Blood RNA jest znakiem towarowym Qiagen.

\*\* BD Hemogard jest znakiem towarowym BD (Becton Dickinson)

Przed rozpoczęciem procesu izolacji próbki krwi przechowywane w próbkach PAXgene muszą być trzymane w temperaturze pokojowej przez co najmniej 2 godziny, aby zapewnić całkowitą liżę komórek krwi. Probki krwi przechowywane w temperaturze 2–8 °C, –20 °C lub –70 °C, po uzyskaniu temperatury pokojowej należy również przechowywać w tej temperaturze przez co najmniej 2 godziny.

1. Wiruj PAXgene Blood RNA Tubes **10 min** przy **3000 - 5000 x g** używając rotora uchylnego.

**Informacja.** Rotor musi być wyposażony w adaptery do próbek okrągłodennych. Jeśli używane są inne typy adapterów, należy przenieść całą zawartość sterylną końcówką do odpowiedniej próbki i kontynuować wirowanie.

2. Ostrożnie usuń supernatant.

Dodaj **4 ml wody ultraczystej**. Zamknij próbkę przy użyciu nowego zamknięcia BD Hemogard\*\* (dostarczonego z próbkami PAXgene Blood RNA Tubes).

**Uwaga.** Podczas usuwania supernatantu należy uważać, aby nie naruszyć osadu. Należy również osuszyć brzeg próbki czystym ręcznikiem papierowym.

3. Wymieszaj przez worteksowanie do momentu rozpuszczenia osadu a następnie wiruj **10 min** przy **3000 - 5000 x g** używając rotora uchylnego.

**Informacja.** Obecność niewielkiej ilości nierozpuszczonego osadu po worteksowaniu, ale przed wirowaniem, nie wpłynie na procedurę izolacji RNA.

4. Usuń supernatant.

**Uwaga.** Niepełne usunięcie supernatantu zahamuje liżę i rozcieńczy lizat, a tym samym wpłynie na warunki wiązania RNA w procesie oczyszczania.

5. Dodaj **500 µl Fenozolu Plus** i przenieś próbkę do zamykanej próbki 1,5 ml (nie ma w zestawie).

6. Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie próbki i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C**.

7. Dodaj **170 µl wody ultraczystej**.

Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie próbki.

**Informacja.** Dodanie wody ma na celu precypitację DNA.

8. Próbkę wiruj **10 min** przy **12 000 RPM**.



9. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu. Należy ostrożnie pobierać nadsącz, aby do kolejnego etapu oczyszczania nie przenieść precipitatu. Krok jest kluczowy dla czystości RNA.

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

## Tkanki stałe

1. Próbkę tkanki rozetrzyj w moździerzu z ciekłym azotem.  
Przenieś sproszkowaną próbkę do zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).

**Uwaga.** W przypadku tkanek miękkich zastosuj liżę mechaniczną. Przenieś próbkę do probówki zawierającej kuleczki cyrkonioowe (A&A Biotechnology nr kat. K-PKC-50). Umieść probówkę w urządzeniu Beadbeater i przeprowadź proces wytrząsania.

2. Dodaj **500 µl Fenozolu Plus.**

3. Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie probówki i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C.**

4. Dodaj **170 µl wody ultraczystej.**  
Wymieszaj zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie probówki.

**Informacja.** Dodanie wody ma na celu precipitację DNA.


5. Próbkę wiruj **10 min** przy **12 000 RPM.**

6. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu. Należy ostrożnie pobierać nadsącz, aby do kolejnego etapu oczyszczania nie przenieść precipitatu. Krok jest kluczowy dla czystości RNA.

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

# Protokół

## Pliki z protokołami

urządzenie	nazwa protokołu	plik z protokołem	instalacja
Auto-Pure Mini	MQ-RNA-MI	<a href="http://aabiotech.com/protocols/magnifiq/MI/MQ-RNA-MI.txt">aabiotech.com/protocols/magnifiq/MI/MQ-RNA-MI.txt</a>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Na dysku USB utwórz folder "items" i skopiuj do niego plik z protokołem.</li> <li>2. Włóż dysk USB do portu USB w urządzeniu.</li> <li>3. Na ekranie urządzenia przejdź do opcji Settings &gt; System &gt; Transfer &gt; Import.</li> <li>4. Wybierz protokół i naciśnij "Import".</li> </ol>
Auto-Pure Mini (QR code)	MQ-RNA-MI		<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Na ekranie urządzenia przejdź do opcji Run &gt; ☰ &gt; ☞</li> <li>2. Zeskanuj kod QR za pomocą skanera.</li> </ol>
Auto-Pure 32A	MQ-RNA32A	<a href="http://aabiotech.com/protocols/magnifiq/32A/MQ-RNA-32A.txt">aabiotech.com/protocols/magnifiq/32A/MQ-RNA-32A.txt</a>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Na dysku USB utwórz folder "items" i skopiuj do niego plik z protokołem.</li> <li>2. Włóż dysk USB do portu USB w urządzeniu.</li> <li>3. Na ekranie urządzenia przejdź do opcji Settings &gt; Im.&amp;Export &gt; Import.</li> <li>4. Wybierz protokół i naciśnij "Import".</li> </ol>
Auto-Pure S32	MQ_RNA_S32	<a href="http://aabiotech.com/protocols/magnifiq/S32/MQ_RNA_S32.txt">aabiotech.com/protocols/magnifiq/S32/MQ_RNA_S32.txt</a>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Na dysku USB utwórz folder "im_export_protocols" i skopiuj do niego plik z protokołem.</li> <li>2. Włóż dysk USB do portu USB w urządzeniu.</li> <li>3. Na ekranie urządzenia przejdź do opcji Protocols &gt; Import.</li> <li>4. Wybierz protokół i naciśnij "Import".</li> </ol>

## Protokół izolacji

- Wiruj płytkę **XP-R** przez **1 min** przy **2000 RPM**.

**Informacja.** Zwirowanie płytki ma na celu usunięcie pozostałości roztworów z górnej folii zabezpieczającej.

- Ostrożnie zdejmij folię z płytki **XP-R**.

- Dodaj po **600 µl** uprzednio przygotowanych próbek do studzienek w kolumnach **1 i 7** na płytce **XP-R**.

**Uwaga.** Jeżeli na dnie probówki, z której pobierasz próbkę nie ma widocznego osadu, pobieraj przesącz począwszy od góry tak aby nie wymieszać całości po wirowaniu. Krok ten ma na celu oddzielenie frakcji zawierającej DNA.

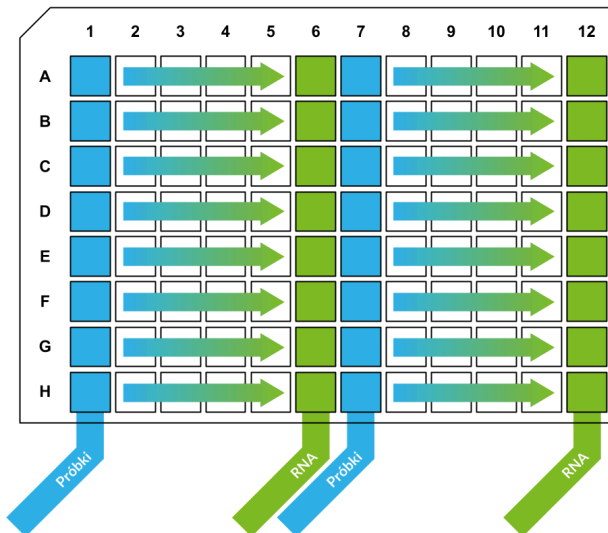
- Umieść jedną lub dwie płytki **XP-R** w urządzeniu do izolacji.

- Umieść odpowiednią ilość **grzebleni 8** w urządzeniu do izolacji.

- Uruchom protokół.

- Po zakończeniu programu usuń umieszczone w urządzeniu grzeblenie a następnie wyjmij płytkę **XP-R**. Zaklej płytkę folią zabezpieczającą. Oczyszczone RNA znajduje się w kolumnach **6 i 12**.

**Informacja.** W przypadku dłuższego przechowywania oczyszczonego materiału przenieś go do odpowiednich probówek i przechowuj w temperaturze **-80 °C**.



## Informacje dodatkowe

### Przygotowanie materiału na płytce 96-dołkowej

Przeprowadzając lizę materiału na płytce 96-dołkowej należy postępować według odpowiedniej procedury przygotowania materiału w probówkach zamykanych 1,5 ml zmieniając:

- Parametry inkubacji  
Należy podnieść temperaturę inkubacji o **5 °C** oraz wydłużyć czas o **10 min** z ciągłym wytrząsaniem **min 1000 RPM**.
- Parametry wirowania  
Należy wirować płytkę przez **5 min** przy prędkości **1 000 x g**.

# Informacje bezpieczeństwa

---



## NIEBEZPIECZEŃSTWO

### Fenozol Plus

H301+H311+H331 Działa toksycznie po połknięciu, w kontakcie ze skórą lub w następstwie wdychania.  
H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.  
H341 Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.  
H373 Może powodować uszkodzenia narządów poprzez długotrwałe lub wielokrotne narażenie.  
H411 Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.  
P261 Unikać wdychania pyłu.  
P273 Unikać uwolnienia do środowiska.  
P280 Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy.  
P301+P310 W przypadku połknięcia natychmiast 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.  
P310 Natychmiast skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.



## NIEBEZPIECZEŃSTWO

### XP-R - płytko do izolacji

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.  
H302+H312+H332 Działa szkodliwie po połknięciu, w kontakcie ze skórą lub w następstwie wdychania.  
H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.  
H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.  
P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.  
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.  
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.  
P261 Unikać wdychania par.  
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 2025-2

