



[Наименование] MagPure Universal DNA Precast Kit (Auto Pure 32)

[Артикул] IVD3102-TL-06

[Спецификация] 96 реакций

[Назначение]

Данный набор предназначен для выделения ДНК высокой чистоты из различных биологических образцов (кровь, ткани, эксфолиированные клетки, образцы FFPE, сыворотка, плазма, пятна крови, спермы и пота, мазки, слюна и культуры клеток).

[Принцип работы набора]

Работа набора основана на методе магнитной сепарации с использованием магнитных частиц с высокой степенью связывания. Сначала образец лизируют с помощью буфера для лизиса и раствора протеиназы К. При этом ДНК высвобождается в лизат. Затем в раствор добавляются магнитные частицы, на поверхности которых абсорбируется только ДНК. Неабсорбированные примеси удаляются во время нескольких последовательных этапов промывки. На последнем этапе ДНК элюируется с магнитных частиц с помощью элюирующего буфера или воды без нуклеаз.

[Состав набора]

| Компонент | Комментарий | Количество |
|--|--|------------|
| РНКаза А | | 20 мг |
| Протеиназа К | | 50 мг |
| Буфер для растворения фермента | | 6 мл |
| Буфер для лизиса ATL | | 40 мл |
| Буфер для лизиса AL | | 40 мл |
| Насадка на магнитные стержни AS-Tip | | 12 штук |
| 2 мл глубоколоночный 96-луночный планшет (2.0ml V-bottom plate) | Столбцы 1/7: 450 мкл буфера BD (80% спирт добавлен) | 6 штук |
| | Столбцы 2/8: 450 мкл буфера BW1 (56% спирт добавлен) | |
| | Столбцы 3/9: 450 мкл буфера BW1 (56% спирт добавлен) | |
| | Столбцы 4/10: 450 мкл буфера GW2 (80% спирт добавлен), 20 мкл магнитных частиц | |
| | Столбцы 5/11: 450 мкл буфера GW2 (80% спирт добавлен) | |
| | Столбцы 6/12: 80 мкл буфера для элюции Elution Buffer | |

[Условия хранения и срок годности]

Набор транспортируется и хранится при комнатной температуре. Срок годности набора – 18 месяцев.

[Совместимая станция для автоматизированного выделения НК]

Auto-Pure 32 (Allsheng, Китай) или аналогичная

[Подготовка перед началом работы]

- Добавьте 2,5 мл буфера для растворения фермента в баночку с протеиназой К, хорошо перемешайте и храните при -20°C.
- Добавьте 1,4 мл буфера для растворения фермента в баночку с РНКазой А, хорошо перемешайте и храните при -20°C.

[Часть 1: Подготовка образца]

A. Жидкие образцы (такие как кровь, сыворотка, плазма, лейкоцитарная пленка, клеточная суспензия и т. д.)

Добавьте 20 мкл протеиназы К, (опционально) 5 мкл РНКазы А и 200 мкл образца (кровь, лейкоцитарная пленка, плазма, сыворотка, суспензия клеток) в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку. Добавьте 220 мкл буфера AL, вортексируйте 15 секунд, инкубируйте на термошейкере 10 минут при 70°C.

Переходите к части 2.

B. Сухие пятна крови или спермы

Перенесите 3-5 кусочков пятен крови диаметром 3 мм в 2 мл микроцентрифужную пробирку. Добавьте 300 мкл буфера ATL и 20 мкл протеиназы К к образцу, инкубируйте на термошейкере 60 минут при 55°C (900-1200 rpm). В случае пятен спермы, добавьте 10 мкл DTT (1M) к лизату. Затем добавьте 150 мкл буфера AL, инкубируйте на термошейкере 15 минут при 70°C (900-1200 rpm). Центрифугируйте 2 минуты при 13 000 g.

Переходите к части 2.

C. Сухие мазки

Перенесите мазок в 2 мл микроцентрифужную пробирку. Добавьте 20 мкл протеиназы К и 500 мкл буфера ATL, инкубируйте на термошейкере 30 минут при 55°C (900-1200 rpm). Центрифугируйте 2 минуты при 13 000 g.

Переходите к части 2.

D. Влажные мазки (включая стабилизирующий раствор)

Центрифугируйте 1 минуту при 10 000 g для сбора клеток. Отберите жидкость таким образом, чтобы в пробирке осталось 300 мкл раствора и мазок. Добавьте 100 мкл буфера ATL, (опционально) 5 мкл РНКазы А и 20 мкл протеиназы К, инкубируйте на термошейкере 30 минут при 55°C (900-1200 rpm).

Переходите к части 2.

Е. Образцы слюны (включая стабилизирующий раствор)

Перенесите 450 мкл раствора в 2 мл микроцентрифужную пробирку. Добавьте 20 мкл протеиназы К и (опционально) 5 мкл РНКазы А, инкубируйте на термошейкере 30-90 минут при 55-65°C.

Переходите к части 2.

Ф. Образцы тканей (<20 мг)

Перенесите до 20 мг тканей в 2 мл микроцентрифужную пробирку. Добавьте 20 мкл протеиназы К и 200 мкл буфера ATL. Инкубируйте на термошейкере 30-120 минут при 55°C до полного растворения образца. Добавьте 5 мкл РНКазы А, хорошо перемешайте и оставьте на 10 минут. Добавьте 200 мкл буфера AL, инкубируйте на термошейкере 10 минут при 70°C. Центрифугируйте 2 минуты при 13 000 g.

Переходите к части 2.

Г. Культура клеток (< 5·10⁶)

Отберите соответствующее количество жидких образцов, таких как культуральная среда, моча, амниотическая или асцитической жидкость, в микроцентрифужную пробирку, центрифугируйте при 2000 x g в течение 10 минут. Отберите надосадочную жидкость таким образом, чтобы в пробирке осталось 100 мкл культуральной среды / биологической жидкости. Ресуспенсируйте осадок вортиксированием. Добавьте 100 мкл буфера ATL, (опционально) 5 мкл РНКазы А и 20 мкл протеиназы К, инкубируйте на термошейкере 15-30 минут при 55°C (900-1200 rpm). Добавьте 200 мкл буфера AL, вортиксируйте 15 секунд.

Переходите к части 2.

Н. FFPE-образцы

Перенесите образцы в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку и удалите парафин с помощью ксилена или аналогичного реактива (не входит в набор). Добавьте 20 мкл протеиназы К и 220 мкл буфера ATL, хорошо перемешайте и инкубируйте на термошейкере 60-90 минут при 55°C. Затем инкубируйте 60 минут при 90°C. Добавьте 5 мкл РНКазы А, хорошо перемешайте и оставьте на 10 минут. Добавьте 220 мкл буфера AL, вортиксируйте 15 секунд. Центрифугируйте 3 минуты при 10 000 g, чтобы удалить нерастворенные частицы.

Переходите к части 2.

[Часть 2: Загрузка станции Auto-Pure 96]

1. Достаньте необходимые компоненты набора из коробки.
2. Переверните планшеты с реагентами 3 раза, чтобы ресуспандировать магнитные частицы.
3. Достаньте планшеты из упаковки, а также удалите с них защитную пленку.
4. Наденьте насадки на магнитные стержни.
5. Добавьте в столбцы 1/7 по 400-450 мкл лизированного образца (см. Часть 1).
6. Поместите планшеты в прибор Auto-Pure 32.
7. Включите прибор и запустите на нем протокол для набора IVD3102-TL-06 (см. ниже).
8. После завершения программы достаньте из прибора и отберите элюат из столбцов 6/12 в чистые пробирки. Элюированную ДНК храните при -20°C.

[Информация о производителе]

| | |
|--|--|
| | <p>Guangzhou Magen Biotechnology Co., Ltd.</p> <p>Комната 401, здание D, № 7, 3-я улица Цзинье, промышленный парк Юшу, зона высокотехнологичного промышленного развития Гуанчжоу, район Хуанпу, Гуанчжоу, 510663, Китай</p> <p>www.magen-tec.com +86 20 3855 5004 info@magen-tec.com</p> |
|--|--|

[Рекомендованный протокол для Auto-Pure 32]

| Name | Plate | Mix Time (min) | Mix 1-100% | Wait | Volume (ul) | Speed (1-10) | Magnet (0-5) | Repeat (1-10) | Magnet Speed (1-10) | Stay (min) | Hover (min) | 1 st Step Magnet time | 2 nd step Magnet time | 3 rd step Magnet time |
|-------------|-------|----------------|------------|------|-------------|--------------|--------------|---------------|---------------------|------------|-------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Magnet move | 4 | 0.5min | 70% | 0 | 600 | 7 | 3 | 1 | 5 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 |
| Sample | 1 | 5min | 70% | 0 | 850 | 7 | 3 | 2 | 5 | 0.5 | 0 | 5 | 5 | 5 |
| Wash 1 | 2 | 2min | 70% | 0 | 500 | 8 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 |
| Wash 2 | 3 | 2min | 70% | 0 | 500 | 8 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 |
| Wash 3 | 4 | 1min | 70% | 0 | 500 | 8 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 |
| Wash 4 | 5 | 1min | 70% | 6min | 500 | 8 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 |
| Elute | 6 | 8min | 70% | 0 | 100 | 8 | 3 | 2 | 5 | 0 | 0 | 5 | 5 | 3 |
| Drop | 5 | 0.2min | 70% | 0 | 500 | 8 | 0 | | | | | | | |