



[Наименование] MagPure Universal DNA Precast Kit (Auto Pure 96)

[Артикул] IVD3102-F-96

[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		30 мл
Буфер для лизиса AL		30 мл
Насадка на магнитные стержни 96-Tip		1 штука
Планшет для связывания образца (Sample Plate)	450 мкл буфера BD (80% спирт добавлен)	1 штука
Планшет для промывки 1 (Wash 1 Plate)	600 мкл буфера BW1 (56% спирт добавлен)	1 штука
Планшет для промывки 2 (Wash 2 Plate)	600 мкл буфера BW1 (56% спирт добавлен)	1 штука
Планшет для промывки 3 (Wash 3 Plate)	750 мкл буфера GW2 (80% спирт добавлен), 20 мкл магнитных частиц	1 штука
Планшет для элюции (DW Plate)	80 мкл буфера для элюции Elution Buffer	1 штука

[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 96 (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]

А. 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.

В. 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.

С. 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.

Д. 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.

F. 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.

G. 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. Ресуспендируйте осадок вортиксованием. 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.

H. 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 Планшет для промывки 3 (Wash 3 Plate) 3 раза, чтобы ресуспендировать магнитные частицы.
3. Достаньте планшеты из упаковки, а также удалите с них защитную пленку.
4. Поместите насадку на магнитные стержни 96-Tip в Планшет для промывки 3 (Wash 3 Plate).
5. Возьмите Планшет для связывания образца (Sample Plate) и добавьте в него по 400-450 мкл лизированного образца (см. Часть 1).
6. Поместите планшеты в прибор Auto-Pure 96.
7. Включите прибор и запустите на нем протокол для набора IVD3102-F-96 (см. ниже).
8. После завершения программы достаньте из прибора Планшет для элюции (DW Plate). 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 Цзинъюе, 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 96]

Name	Plate	Mix time (min)	Mix 1-100%	Wait	Volume (ul)	Mix 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
96-Tip	5	0	0	0	750									
Bind	5	0.5min	70%	0	600	7	3	1	5	0	0	3	3	3
Sample	2	5min	70%	0	850	7	3	2	5	0.5	0	5	5	5
Wash 1	3	2min	70%	0	600	8	3	1	1	0	0	3	3	3
Wash 2	4	2min	70%	0	600	8	3	1	1	0	0	3	3	3
Wash 3	5	1min	70%	6min	750	8	3	1	1	0	0	3	3	3
Elution	8	8min	70%	0	100	8	3	2	5	0	0	5	5	3
Drop	5	0.2min	70%	0	600	8	0							