



LumiMAG·genomic DNA Blood and Buccal Kit Manual

Contents

Русский: Инструкция к набору LumiMAG для выделения геномной ДНК из цельной крови и Buccalного эпителия	3-12
--	------

Инструкция к набору LumiMAG для выделения геномной ДНК из цельной крови и Buccalного 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
	31753 100 minipreps
D1315, Магнитные частицы / Magnetic Beads (100 мг/мл), 2 mL	1
62850, Протеиназа К / Proteinase K (лиофилизованная), 100 mg	1
C3850, Буфер для растворения протеиназы К / Proteinase K Dilution Buffer, 1 mL	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
K1350, Элюирующий буфер / Elution Buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.5), 10 mL	1

Хранить 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 В* 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 К* в пробирку с лиофилизованной *протеиназой К*, тщательно перемешайте, сбросьте капли центрифугированием.

! Раствор протеиназы К после приготовления хранить в морозилке при -20 °С.

3. При наличии осадка в *лизирующем растворе ВВ* и *промывочном растворе МАG А* прогрейте их в термостате до температуры не выше 50 °С 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 В	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 К по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл суспензии магнитных частиц + 10 мкл раствора протеиназы К.
4. Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы К. 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 К.
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 ВВ*.
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 °С), кратковременно при +4 °С.

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 К по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл суспензии магнитных частиц + 10 мкл раствора протеиназы К.
3. Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы К. 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 К.
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 ВВ*.
7. Добавьте *Промывочный раствор MAG А*, *Промывочный раствор В*, *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 °С), кратковременно при +4 °С.

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 К по схеме: 30 мкл смеси на 1 образец = 20 мкл *магнитных частиц* + 10 мкл раствора *протеиназы К*.
3. Тщательно перемешайте смесь магнитных частиц и протеиназы К. 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 К.
5. Тщательно перемешайте содержимое пробирки на вортексе. Инкубируйте 2 минуты при комнатной температуре.
6. Добавьте в каждую пробирку 700 мкл *Лизирующего раствора ВВ*. 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 МАG А*, тщательно перемешайте на вортексе или пипетированием. Поместите пробирки в магнитный штатив, после осаждения частиц удалите супернатант.
9. Добавьте 500 мкл *Промывочного раствора В*, 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 °С), кратковременно при +4 °С.

000 «Диаэм»

Москва

ул. Магаданская, д. 7, к. 3 ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ sales@dia-m.ru

www.dia-m.ru

С.-Петербург
+7 (812) 372-6040
spb@dia-m.ru

Новосибирск
+7(383) 328-0048
nsk@dia-m.ru

Воронеж
+7 (473) 232-4412
vrn@dia-m.ru

Йошкар-Ола
+7 (927) 880-3676
nba@dia-m.ru

Красноярск
+7(923) 303-0152
krsk@dia-m.ru

Казань
+7(843) 210-2080
kazan@dia-m.ru

Ростов-на-Дону
+7 (863) 303-5500
rnd@dia-m.ru

Екатеринбург
+7 (912) 658-7606
ekb@dia-m.ru

Кемерово
+7 (923) 158-6753
kemerovo@dia-m.ru

Армения
+7 (094) 01-0173
armenia@dia-m.ru

