

Instrukcja

MagnifiQ™ 1 Total RNA Plus instant kit

Zestaw do zautomatyzowanej, magnetycznej izolacji całkowitego RNA w formacie pasków. Zawiera gotowe do użycia, napełnione odczynnikami paski oraz wszystkie niezbędne elementy zużywalne.

numer katalogowy	wielkość	kompetybilne urządzenia *
614A-1V-32	32 izolacje	Auto-Pure Mini
614A-1V-160	160 izolacji	Auto-Pure Mini

* Kompetybilne 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 wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Spis treści

Zalety	3
Materiał wyjściowy	3
Specyfikacja	3
Opis	3
Skład	4
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	4
Niezbędne	4
Przygotowanie materiału	5
Bakterie G+ (hodowle)	5
Bakterie G- (hodowle)	6
Hodowle komórkowe	6
Krew świeża (nie mrożona)	7
Tkanki stałe	8
Protokół izolacji	9
Informacje bezpieczeństwa	11

Zalety

- Wymaga jedynie kilku minut pracy przy dodawaniu próbek. Reszta procedury prowadzona jest w automatycznym urządzeniu do izolacji.
- Nie wymaga wstępnego przygotowania i rozporcjowania buforów. Wystarczy dodać próbki i umieścić paski w urządzeniu. Po około 30 minutach otrzymujesz oczyszczony materiał.
- Umożliwia izolację RNA pojedynczej próbki.

Materiał wyjściowy

rodzaj materiału	wielkość próbki
Bakterie G+ (hodowle)	do 2×10^8
Bakterie G- (hodowle)	do 2×10^8
Hodowle komórkowe	do 2×10^6
Krew świeża (nie mrożona)	do 1 ml
Tkanki stałe	20 - 50 mg

Specyfikacja

czas trwania procedury izolacji	~ 30 min
objętość elucji	100 μ l ¹
roztwór elucyjny	bufor Tris
pojemność wiązania	30 μ g RNA
zastosowanie wyizolowanego materiału	Odwrotna transkrypcja RT-PCR, sekwencjonowanie transkryptomu

¹ Objętość elucji przygotowana na pasku do izolacji to 100 μ l. W celu uzyskania mniejszej objętości elucji odejmij odpowiednią ilość roztworu elucyjnego ze studzienki 6 na pasku XS-R. Nie zmniejszaj objętości elucji poniżej 50 μ l.

Opis

Zestaw **MagnifiQ™ 1 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 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 błędu w porównaniu do metod manualnych.

Skład

składnik	614A-1V-32		614A-1V-160		przechowywanie
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	
XS-R - pasek do izolacji	4 x 8 szt.	K-S1V22XR	20 x 8 szt.	K-S1V22XR	15–25 °C
Fenozol Plus	20 ml	K-FENP-20	90 ml	K-FENP-90	4–8 °C
woda ultraczysta	8 ml	K-WUP-8	40 ml	K-WUP-40	-20–25 °C
grzebień 8	8 x 2 szt.	K-C8U-2	40 x 2 szt.	K-C8U-2	15–25 °C

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

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

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 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 Fenozolu Plus**.

6. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C**.

7. Dodaj **170 µl wody ultraczystej** i worteksuj przez **10 s**.

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 do zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie). Wiruj przez **3 min** przy **10 000 RPM**. Usuń supernatant.
2. Dodaj **500 µl Fenozolu Plus**.
3. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C**.
4. Dodaj **170 µl wody ultraczystej** i worteksuj przez **10 s**.
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 precypitatu. Krok jest kluczowy dla czystości RNA.

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

Hodowle komórkowe

1. Przenieś próbkę do zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie). Wiruj przez **3 min** przy **10 000 RPM**. Usuń supernatant.
2. Dodaj **500 µl Fenozolu Plus**.
3. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C**.
4. Dodaj **170 µl wody ultraczystej** i worteksuj przez **10 s**.
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 precypitatu. 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 przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C**.

6. Dodaj **170 µl wody ultraczystej** i worteksuj przez **10 s**.

Informacja. Dodanie wody ma na celu precypitację DNA.

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

8. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbkę 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](#).

Tkanki stałe

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

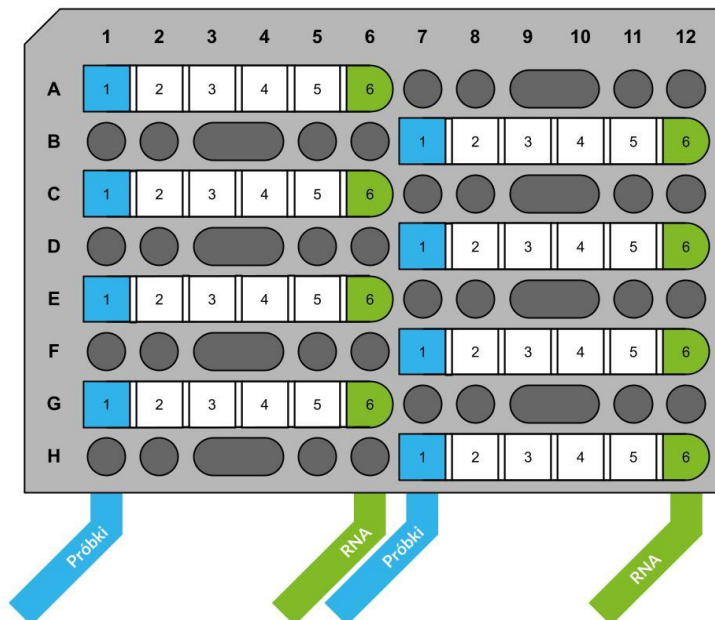
Uwaga. W przypadku tkanek miękkich zastosuj liżę mechaniczną. Przenieś próbkę do probówki zawierającej kuleczki cyrkoniowe (A&A Biotechnology nr kat. 106-50Z). Umieść probówkę w urządzeniu Beadbeater i przeprowadź proces wytrząsania.
2. Dodaj **500 µl FenoZolu Plus**.
3. Wymieszaj przez worteksowanie **10 s** i inkubuj przez **5 min** w temp. **50 °C**.
4. Dodaj **170 µl wody ultraczystej** i worteksuj przez **10 s**.

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 precypitatu. Krok jest kluczowy dla czystości RNA.

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

Protokół izolacji

1. Umieść paski **XS-R** w statywie.



2. Zdejmij folię z pasków.

3. Dodaj **600 µl** próbki do studzienki **1** (pierwszej od lewej) na pasku **XS-R**.

Informacja. Studzienki ponumerowane są na bocznej ścianie paska.

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.

4. Umieść statyw w urządzeniu do izolacji.

5. Umieść odpowiednią ilość **Grzebieni 8** w urządzeniu do izolacji.

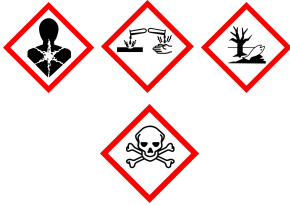
6. Uruchom program według poniższej tabeli:

Step	Well	Name	Mix Time (min)	Magnet (s)	Wait Time (min)	Volume (µl)	Mix Speed (1-10)	Temp. (°C)
1	1	MIX	5,0	0	0,0	900	4	OFF
2	5	BEADS	0,5	30	0,0	600	5	OFF
3	1	BIND	5,0	60	0,0	900	6	OFF
4	2	WASH1	2,0	30	0,0	600	6	OFF
5	3	WASH2	1,0	30	0,0	600	6	OFF
6	4	WASH3	1,0	30	5,0	600	6	OFF
7	6	ELUTION	6,0	60	0,0	100	8	50
8	3	DROP	1,0	0	0,0	600	5	OFF

7. Po zakończeniu programu usuń umieszczone w urządzeniu grzebienie a następnie wyjmij statyw. Przenieś oczyszczone RNA znajdujące się w studzience **6** (pierwszej od prawej) na pasku **XS-R** do jałowych probówek zamykanych (nie ma w zestawie).

Informacja. Oczyszczony materiał przechowuj w temp. -80 °C.

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

XS-R pasek 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. Wyplukać 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

