

Instrukcja

MagnifiQ™ 1 Plasmid Mini instant kit

Zestaw do zautomatyzowanej, magnetycznej izolacji plazmidów wysokokopijnych w formie pasków. Zawiera gotowe do użycia, napełnione odczytnikami paski oraz wszystkie niezbędne elementy zużywalne.

numer katalogowy	wielkość	kompatybilne urządzenia *
620A-1V-32	32 izolacji	Auto-Pure Mini Auto-Pure S32
620A-1V-160	160 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@aabiotech.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:

- odstąpienia od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczytników niż zalecane lub które nie wchodzi w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczytników oraz elementów produktu

Spis treści

Zalety	3
Specyfikacja	3
Opis	3
Skład	4
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	4
Niezbędne	4
Opcjonalne	4
Ważne informacje	5
Przygotowanie materiału	5
Protokół izolacji	6
Informacje dodatkowe	8
System barwny LySee	8
Zawieszanie i liza	8
Zobojętnianie i precypitacja	8
Informacje bezpieczeństwa	9

Zalety

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

Specyfikacja

czas trwania procedury	~30 min
rodzaj próbki	hodowle bakteryjne
wielkość próbki	do 3 ml
objętość elucji	60 µl
roztwór elucyjny	bufor Tris
pojemność wiązania	30 µg DNA
zastosowanie wyizolowanego materiału	PCR, real-time PCR, sekwencjonowanie

Opis

Zestaw **MagnifiQ™ 1 Plasmid Mini instant kit** przeznaczony jest do izolacji plazmidów wysokopijnych. Wyizolowany materiał doskonale nadaje się do dalszych analiz i testów metodami PCR i real-time 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 błędów w porównaniu do metod manualnych.

Skład

składnik	620A-1V-32		620A-1V-160		przechowywanie
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	
XS-P - pasek do izolacji	4 x 8 szt.	K-S1V22XP	20 x 8 szt.	K-S1V22XP	15–25 °C
L1 roztwór do zawieszania komórek	10 ml	K-L1-10	45 ml	K-L1-45	4–8 °C
L2 roztwór lizujący	10 ml	K-L2-10	45 ml	K-L2-45	15–25 °C
L3 roztwór zobojętniający	10 ml	K-L3-10	45 ml	K-L3-45	15–25 °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 2 ml (do lizy próbek)
- pipeta
- końcówki do pipety

Opcjonalne

- wirówka

Ważne informacje

- W roztworze lizującym L2 znajduje się SDS, który precypituje w niskich temperaturach. Jeżeli roztwór lizujący L2 nie jest klarowny, należy go ogrzać w temp. 40 °C do uzyskania całkowitej klarowności.

Przygotowanie materiału

Przygotowanie materiału opiera się na systemie kontroli wizualnej LySee. Więcej informacji znajduje się w dziale [Informacje dodatkowe](#) na końcu instrukcji.

1. Zwiruj do **3 ml (1,5-3 ml)** nocnej hodowli bakteryjnej.
Usuń supernatant.

2. Osad zawieś w **250 µl** roztworu L1 do zawieszania komórek.

Uwaga. W trakcie zawieszania osadu bakteryjnego roztwór będzie zmieniał wygląd z całkowicie transparentnego o odcieniu ciemnoróżowym na nieprzezroczysty o odcieniu jasnoróżowym. Zawieszanie można zakończyć po całkowitym zniknięciu osadu u dołu próbówki.

3. Dodaj **250 µl** roztworu lizującego L2 i ostrożnie wymieszaj do całkowitej lizy.

Uwaga. Po dodaniu roztworu lizującego L2, należy ostrożnie mieszać zawartość próbówki, aby nie spowodować fragmentacji chromosomalnego DNA. Zwykle wystarczy kilkukrotne odwracanie próbówki. Mieszanina powinna zmieniać wygląd i zabarwienie.

4. Pozostaw na **3 min w temp. pokojowej**.

Uwaga. Po 3 min inkubacji, lizat powinien być całkowicie klarowny i jednolicie malinowy. Jeżeli nie jest, należy wymieszać lizat kilka razy i przedłużyć czas inkubacji o dalsze 3 min.

5. Dodaj **250 µl** roztworu zobojętniającego L3 i ostrożnie wymieszaj, aż do zniknięcia malinowej barwy lizatu.

Uwaga. Po dodaniu roztworu zobojętniającego L3, następuje gwałtowna precypitacja potasowych soli SDS oraz chromosomalnego DNA i niektórych białek. Po wymieszaniu, zawartość próbówki powinna zmienić kolor na lekko żółty. Brak śladów malinowego zabarwienia wskazuje na całkowite zobojętnienie i pomyślne zakończenie lizy alkalicznej.

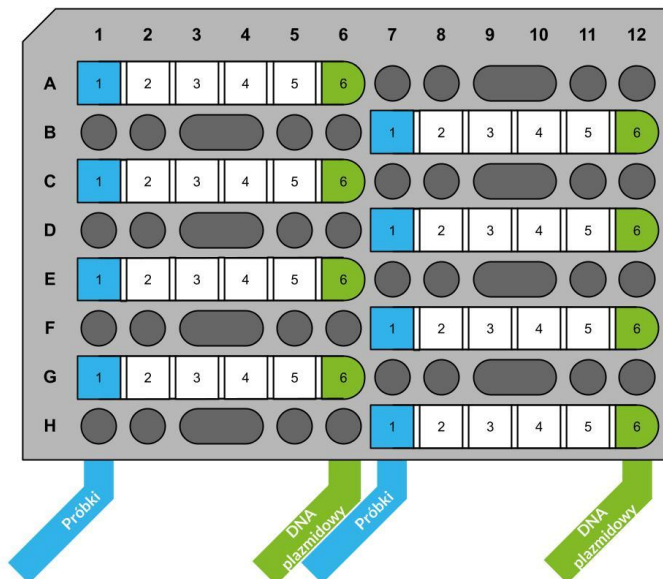
6. Lizat wiruj przez **10 min** przy **10 000-15 000 RPM**.

7. **Uwaga.** W protokole izolacji jako próbki użyj supernatantu.

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

Protokół izolacji

1. Umieść paski **XS-P** w statywie.



2. Zdejmij folię z pasków.
3. Dodaj maksymalnie po **600 µl** próbki do studzienki **1** (pierwszej od lewej) na pasku **XS-P**.
Informacja. Studzienki ponumerowane są na bocznej ścianie paska.
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	BIND	5.0	40	0.0	900	5	OFF
2	2	WASH1	2.0	40	0.0	600	6	OFF
3	3	WASH2	1.0	40	0.0	600	6	OFF
4	4	WASH3	1.0	40	4.0	600	6	OFF
5	6	ELUTION	5.0	60	0.0	60	6	65
6	3	DROP	0.5	0	0.0	600	5	OFF

7. Po zakończeniu programu usuń grzebień, a następnie wyjmij statyw z urządzenia. Przenieś oczyszczony DNA plazmidowy znajdujący się w studziencie **6** (pierwszej od prawej) na pasku **XS-P** do jałowych probówek zamykanych (nie ma w zestawie).

Informacja. Oczyszczony materiał przechowuj w temp. 4 °C.

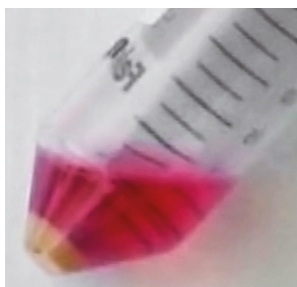
Informacje dodatkowe

System barwny LySee

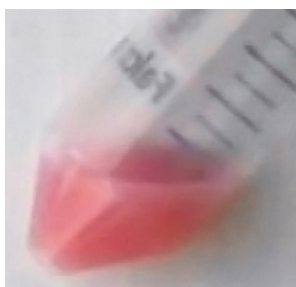
System barwny LySee umożliwia łatwą i wygodną kontrolę etapów lizy alkalicznej. Dzięki kontroli wizualnej, możliwe jest wyeliminowanie ewentualnych błędów, takich jak: niecałkowite zawieszenie komórek, nieefektywna liza komórek, niepełna precipitacja niepożądanych składników komórkowych.

Zawieszanie i liza

Dodanie do osadu komórek bakteryjnych przejrzystego, purpurowego roztworu **L1** sprawia, że osad jest łatwy do zlokalizowania (rys. 1). Podczas procesu zawieszania, mieszanina staje się mętna o jasnoróżowym odcieniu (rys. 2). Etap zawieszania jest zakończony, gdy osad komórek bakteryjnych na dnie próbówki całkowicie zniknie. Po dodaniu roztworu lizującego **L2** i inkubacji lizat staje się malinowy. Liza komórek jest zakończona, gdy roztwór osiągnie jednolodnie przejrzysty malinowy wygląd (rys. 3).



rys. 1



rys. 2



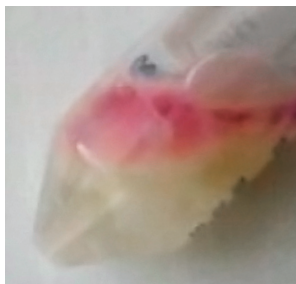
rys. 3

Zobojętnianie i precipitacja

Dodanie do mieszaniny roztworu zobojętniającego **L3** powoduje gwałtowną precipitację potasowych soli SDS, chromosomalnego DNA i niektórych białek (rys. 4). Po wymieszaniu mieszanina staje się lekko żółta (rys. 5). Brak śladów malinowego zabarwienia wskazuje na całkowite zobojętnienie i pomyślne zakończenie lizy alkalicznej (rys. 6).



rys. 4



rys. 5



rys. 6

Informacje bezpieczeństwa



UWAGA

L2 roztwór lizujący

H315 Działa drażniąco na skórę.

H319 Działa drażniąco na oczy.

H334 Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.

H335 Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.

P261 Unikać wdychania pyłu.

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.

P342+P311 W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

XS-P - pasek do izolacji

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H319 Działa drażniąco na oczy.

H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.

P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu

P261 Unikać wdychania par

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. W przypadku konieczności 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 2023-2

