

Instrukcja

MagnifiQ™ 16 Total RNA Plus instant kit

Uniwersalny zestaw do zautomatyzowanej, magnetycznej izolacji całkowitego RNA w formacie 16 próbek na płytce. Zawiera gotowe do użycia, napełnione odczynnikami płytki oraz wszystkie niezbędne elementy zużywalne.

numer katalogowy	wielkość	kompatybilne urządzenia *
614A-16U-64	64 izolacje	Auto-Pure 32A
614A-16V-64	64 izolacje	Auto-Pure Mini
614A-16U-256	256 izolacji	Auto-Pure 32A
614A-16V-256	256 izolacji	Auto-Pure Mini

* 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 odczynników niż zalecane lub które nie wchodzi 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
Opcjonalne	4
Ważne informacje	5
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 dodatkowe	10
Przygotowanie materiału na płytce 96-dołkowej	10
Informacje bezpieczeństwa	11

Zalety

- Nie wymaga wstępnego przygotowania i rozporcjowania buforów. Przygotowane uprzednio próbki nanies na płytkę i umieść w urządzeniu do izolacji. Po około 30 minutach otrzymasz oczyszczony materiał.
- Pozwala na jednoczesną izolację RNA z różnych materiałów podczas pojedynczego cyklu pracy urządzenia.

Materiał wyjściowy

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

Specyfikacja

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

¹ Objętość elucji przygotowana na płytce to 100 µl. W celu uzyskania mniejszej objętości elucji odejmij odpowiednią ilość roztworu elucyjnego ze studzienek w kolumnach 6 i 12 na płytce XP-R. Nie zmniejszaj objętości elucji poniżej 50 µl.

Opis

Zestaw **MagnifiQ™ 16 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 i 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

614A-16U-64			614A-16U-256		
składnik	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	przechowywanie
XP-R - płytka do izolacji	4 szt.	K-P96U22XR	16 szt.	K-P96U22XR	15–25 °C
Fenozol Plus	35 ml	K-FENP-35	140 ml	K-FENP-140	4–8 °C
woda ultraczysta	15 ml	K-WUP-15	60 ml	K-WUP-60	-20–25 °C
grzebień 8	4 x 2 szt.	K-C8U-2	16 x 2 szt.	K-C8U-2	15–25 °C
folia zabezpieczająca	4 szt.	K-MQF-4	16 szt.	K-MQF-16	15–25 °C

614A-16V-64			614A-16V-256		
składnik	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	przechowywanie
XP-R - płytka do izolacji	4 szt.	K-P96V22XR	16 szt.	K-P96V22XR	15–25 °C
Fenozol Plus	35 ml	K-FENP-35	140 ml	K-FENP-140	4–8 °C
woda ultraczysta	15 ml	K-WUP-15	60 ml	K-WUP-60	-20–25 °C
grzebień 8	4 x 2 szt.	K-C8U-2	16 x 2 szt.	K-C8U-2	15–25 °C
folia zabezpieczająca	4 szt.	K-MQF-4	16 szt.	K-MQF-16	15–25 °C

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

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

Opcjonalne

- płytki 96-dołkowe o pojemności 2,2 ml (do lizy próbek)
- wirówka z rotorem uchylnym do płytek 96-dołkowych
- folia zabezpieczająca (liza na płytkach 96-dołkowych)

Ważne informacje

Poniższe protokoły przygotowania materiału dotyczą procedury przeprowadzanej w probówkach zamykanych 1,5 ml. Jeżeli chcesz przygotować materiał na płytce 96-dołkowej patrz w dziale [Informacje dodatkowe](#) na końcu instrukcji.

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 hodowli bakteryjnej zawierającą 2×10^8 bakterii do 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 precipitatu. Krok jest kluczowy dla czystości RNA.

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

Bakterie G- (hodowle)

1. Przenieś próbkę hodowli bakteryjnej zawierającą 2×10^8 bakterii do 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 hodowli komórkowej zawierającą 2×10^6 komórek 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 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](#).

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 Fenożu 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

- Wiruj płytkę **XP-R** przez **1 min** przy **2000 RPM**.

Informacja. Zwirowanie płytki ma na celu usunięcie pozostałości roztworów z górnej folii zabezpieczającej.

- Ostrożnie zdejmij folię z płytki **XP-R**.

- Dodaj po **600 µl** uprzednio przygotowanych próbek do studzienek w kolumnach **1 i 7** na płytce **XP-R**.

Uwaga. Jeżeli na dnie próbówki, z której pobierasz próbkę nie ma widocznego osadu, pobieraj przesącz poczynawszy od góry tak aby nie wymieszać całości po wirowaniu. Krok ten ma na celu oddzielenie frakcji zawierającej DNA.

- Umieść jedną lub dwie płytki **XP-R** w urządzeniu do izolacji.

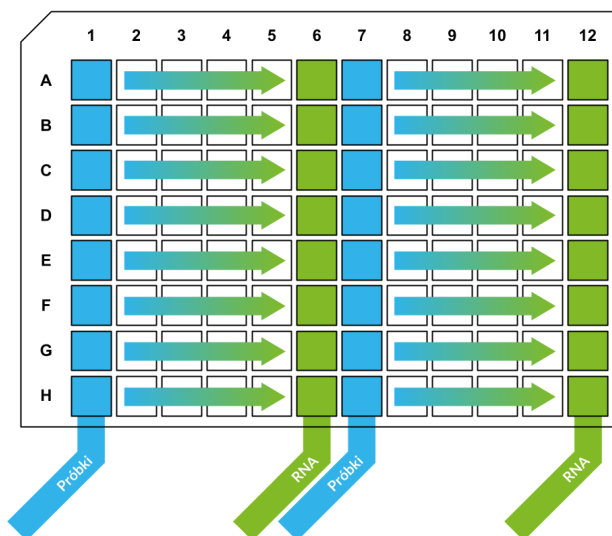
- Umieść odpowiednią ilość **grzebieni 8** w urządzeniu do izolacji.

- Uruchom program według poniższej tabeli:

Step	Well	Name	Mix Time (min)	Magnet (sec)	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	4	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

- Po zakończeniu programu usuń umieszczone w urządzeniu grzebienie a następnie wyjmij płytkę **XP-R**. Zaklej płytkę folią zabezpieczającą. Oczyszczona RNA znajduje się w kolumnach **6 i 12**.

Informacja. W przypadku dłuższego przechowywania oczyszczonego materiału przenieś go do odpowiednich próbek i przechowuj w temperaturze -80 °C.



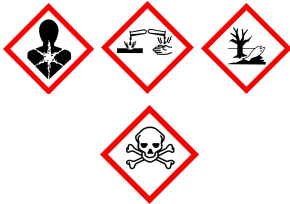
Informacje dodatkowe

Przygotowanie materiału na płytce 96-dołkowej

Przeprowadzając lizę materiału na płytce 96-dołkowej należy postępować według odpowiedniej procedury przygotowania materiału w probówkach zamykanych 1,5 ml zmieniając:

- Parametry inkubacji
Należy podnieść temperaturę inkubacji o **5 °C** oraz wydłużyć czas o **10 min** z ciągłym wytrząsaniem **min 1000 RPM**.
- Parametry wirowania
Należy wirować płytkę przez **5 min** przy prędkości **1 000 x g**.

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

XP-R - płytką 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. Wypluć 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

