

Руководство к наборам для выделения BioMagPure Для автоматического выделения нуклеиновых кислот с помощью систем BioMagPure

BS-060201-AK Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 200
BS-060201-BK Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 1200
BS-060201-CK Набор BioMagPure Viral Nucleic Acid Extraction Kit
BS-060201-DK Набор BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit
BS-060201-EK Набор BioMagPure Cultured Cell DNA Extraction Kit
BS-060201-FK Набор BioMagPure Bacterial DNA Extraction Kit
BS-060201-GK Набор BioMagPure HPV DNA Extraction Kit for Swab Samples
BS-060201-IK Набор BioMagPure TB DNA Extraction Kit
BS-060201-JK Набор BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit
BS-060201-KK Набор BioMagPure Forensic DNA Extraction Kit
BS-060201-LK Набор BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit A
BS-060201-MK Набор BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit B
BS-060201-NK Набор BioMagPure Viral RNA Extraction kit
BS-060201-OK Набор BioMagPure Plant DNA Extraction Kit
BS-060201-PK Набор BioMagPure Total RNA Extraction Kit
BS-060201-QK Набор BioMagPure Viral Nucleic Acid Large Volume Extraction Kit
BS-060201-RK Набор BioMagPure CFC DNA Extraction Kit LV. Для диагностики in vitro

Примечания: наборы Plant DNA Extraction Kit и Total RNA Extraction Kit не имеют классификации CE IVD.

Редакция: 1.01
Дата изм.: 23/03/2017



Содержание

1.	Руководство по выбору наборов реагентов	4
2.	Введение	6
3.	Информация о продукции	7
4.	Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 200	8
5.	Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 1200	13
6.	Набор BioMagPure Viral Nucleic Acid Extraction Kit	16
7.	Набор BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit	19
8.	Набор BioMagPure Cultured Cell DNA Extraction Kit	24
9.	Набор BioMagPure Bacterial DNA Extraction Kit	26
10.	Набор BioMagPure для выделения ДНК ВПЧ из мазков	30
11.	Набор BioMagPure TB DNA Extraction Kit	33
12.	Набор BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit	36
13.	Набор BioMagPure Forensic DNA Extraction Kit	39
14.	Набор BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit A	44
15.	Набор BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit B	47
16.	Набор BioMagPure Viral RNA Extraction kit	50
17.	Набор BioMagPure Plant DNA Extraction Kit	52
18.	Набор BioMagPure Total RNA Extraction Kit	55
19.	Набор BioMagPure Viral Nucleic Acid Large Volume Extraction Kit	59
20.	Набор BioMagPure CFC DNA Extraction Kit LV	61
21.	Протокол выделения	63

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Клеточная культура	Геномная ДНК				✱											✱		
	Общая РНК				✱													
Твердая ткань, биопсия	Геномная ДНК										△					✱		
	Общая РНК						✱											
	Бактерии				✱													
Хвосты грызунов	Геномная ДНК															✱		
	Общая РНК									✱								
Парафиновый срез ткани, фиксированный в формалине	Геномная ДНК							✱										
	ВПЧ							✱					△					
Шеечно-вагинальный образец: соскобы, мазки (щеточка, мазок), лаваж	Бактерии												✱					
	Бактерии + вирус				✱						△							
	Геномная ДНК						✱						△					
	Бактерии												✱					
	Бактерии + вирус												✱					
	Вирус						✱						✱					
Кал	Бактерии												✱					
	Бактерии + вирус										✱							
Криминалистические образцы и образцы для установления личности	Геномная ДНК										✱							
	Геномная ДНК										✱							
Жевательная резинка	Геномная ДНК										✱							
Окурки	Геномная ДНК										✱							
Пятно спермы	Геномная ДНК										✱							
Марки, конверты	Геномная ДНК										✱							
Ногти	Геномная ДНК										✱							
Волосы, корни волос	Геномная ДНК				✱													
Насекомые, рыба, креветки	Геномная ДНК															✱		
	Общая РНК														✱			
Растительный материал (ГМО), грибы	Геномная ДНК															✱		
	Общая РНК														✱			
Дрожжи	Геномная ДНК															✱		
	Общая РНК																	✱
Белок (гистидиновая метка)	Белок с гистидиновой меткой (система экспрессии)												✱					
Образец из окружающей среды, вода	Бактерии						✱						✱					
	Бактерии + вирус												✱					

Рекомендуемый набор: ✱
Совместимый набор: △

2. Введение

2.1. Технология выделения нуклеиновых кислот Biosan

Компания Biosan специализируется на разработках передовых, эффективных и надежных технологий для выделения нуклеиновых кислот, обеспечивающих успешное получение результатов при работе с различными типами образцов.

Технология BioMagPure представляет собой высокотехнологичную платформу, где для выделения нуклеиновых кислот из образцов используются магнитные частицы. Платформа обеспечивает полную автоматизацию процесса выделения нуклеиновых кислот – от образцов до результатов. Процесс выделения включает стадии лизиса, связывания, промывки и элюирования, как показано на рисунке ниже.



Рисунок: Процесс экстракции магнитными частицами BioMagPure

3. Информация о продукции

3.1. Целевое назначение

Наборы BioMagPure предназначены для выделения нуклеиновых кислот из биологического образца с помощью приборов BioMagPure для диагностики *in vitro*.

Выделенные с помощью приборов и наборов реагентов BioMagPure нуклеиновые кислоты можно использовать для различных тестов полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики человека *in vitro*. Приборы и наборы реагентов BioMagPure предназначены только для профессионального применения.

3.2. Ограничения по применению продукции

Приборы и наборы реагентов BioMagPure не предназначены для применения в качестве специфической части диагностики *in vitro*. Пользователь несет ответственность за установление необходимых для следующего этапа диагностики рабочих характеристик. В следующий этап диагностики с использованием нуклеиновых кислот, выделенных с помощью прибора BioMagPure и наборов реагентов BioMagPure, необходимо включить соответствующие способы контроля.

3.3. Гарантия

Компания Biosan обязуется предоставлять своим клиентам продукцию и услуги высокого качества. Наша цель – добиться того, чтобы каждый клиент был на 100% удовлетворен нашей продукцией и нашим обслуживанием. Если у вас имеются вопросы или сомнения относительно нашей продукции или услуг, свяжитесь с представителями нашей службы технической поддержки.

Компания Biosan гарантирует, что технические характеристики и качество работы всей продукции соответствуют спецификациям, указанным в литературе о нашей продукции. Покупатель/пользователь должен сам определять, подходит ли продукция для конкретного применения. Мы оставляем за собой право изменять или модифицировать любую продукцию в целях усовершенствования ее рабочих характеристик и конструкции.

Данной гарантией ответственность компании Biosan ограничивается лишь стоимостью продукции. Гарантия не распространяется на продукцию, срок годности которой истек. Гарантия действует, только если все компоненты продукции хранились в соответствии с инструкциями.

3.4. Гарантия качества

Компания Biosan бесплатно заменит любую продукцию, эксплуатационные качества которой не соответствуют заявленным, и такое нарушение не является следствием нарушения правил эксплуатации. Для замены достаточно обратиться к своему дистрибьютору.

3.5. Техническая поддержка

Для получения технической поддержки и более подробной информации посетите наш сайт по адресу www.Biosan.com или свяжитесь с отделами технического обслуживания Biosan или местными дистрибьюторами.

3.6. Информация о безопасности

Работая с химическими веществами или образцами, всегда надевайте лабораторный халат, одноразовые перчатки и защитные очки. Подробная информация приведена в паспортах безопасности соответствующих материалов (MSDS). Их можно найти, скачать, просмотреть и распечатать на нашем сайте www.biosan.lv

3.7. Информация о производителе

Biosan SIA

Ратсупитес 7, к. 2, Рига, LV-1067, Латвия

Тел.: +371 67426137

Факс: +371 67428101

<http://www.biosan.lv>

4. Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 200

№ по кат. BS-060201-AK

Время обработки: BioMagPure 12S – 50-60 минут

BioMagPure 24 – 50-70 минут

4.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit используется для выделения ДНК из 10-400 мкл цельной крови млекопитающих, суспензии клеток крови млекопитающих с помощью прибора BioMagPure

4.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора для выделения ДНК из крови BioMagPure, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

4.3. Количество тестов

48 выделений

4.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-AK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокалыватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

4.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка 1	Ячейка 2	Ячейка 3	Ячейка 4	Ячейка 5	Ячейка 6	Ячейка 7	Ячейка 8	Ячейка 9	Ячейка 10
Ячейка-1				Раствор протеиназы К					40 мкл
Ячейка-2				Лизирующий буфер 2					1000 мкл
Ячейка-3				Связывающий буфер 1					600 мкл
Ячейка-4				Раствор магнитных частиц					800 мкл
Ячейка-5				Отмывочный буфер 1					1000 мкл
Ячейка-6				Отмывочный буфер 2					1000 мкл
Ячейка-7				Отмывочный буфер 3					1000 мкл
Ячейка-8				Элюирующий буфер 1					1000 мкл
Ячейка-9				Элюирующий буфер 2					1000 мкл
Ячейка-10				Пусто					

4.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

До выполнения следующего анализа выделенную нуклеиновую кислоту или аликвотные пробы хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение, до 10 дней) или при температуре -70°C (длительное хранение).

4.7. Исходный материал

Тип образца	Цельная кровь, лейкоцитарная пленка, лейкоцитарный концентрат млекопитающих*
Выделяемая нуклеиновая кислота	Общая ДНК (геномная ДНК, митохондриальная ДНК и/или вирусная ДНК)**
Объем образца	100-400 мкл цельной крови (количество лейкоцитов менее 2×10^4 клеток/мкл);
	100-400 мкл лейкоцитарного концентрата (содержит не более 5×10^6 клеток); 100-400 мкл лейкоцитарной пленки**
Способы контроля/дополнительный внутренний контроль***	Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль
Объем элюции	50-300 мкл

Если объем образца меньше, добавьте соответствующий объем натрий-фосфатного буфера.

Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit работает со свежими и замороженными образцами крови в пробирках с обычными антикоагулянтами, например, ЭДТА, гепарином* и цитратом (*В качестве антикоагулянта рекомендуется использовать ЭДТА, так как гепарин замедляет реакцию амплификации нуклеиновых кислот).

Для выделения рекомендуется использовать образец цельной крови (не старше 1 недели, который хранился при температуре 4-8°C), так как количество и качество выделяемой нуклеиновой кислоты со временем снижается. Если требуется более длительное хранение, цельную кровь необходимо заморозить и не подвергать разморозке и повторной заморозке.

Данный протокол был разработан для изолирования ДНК из цельной крови здорового человека, у нездорового человека или человека, принимающего лекарства (например, пациентов с лейкемией или инфекционным заболеванием), качество крови может быть несоответствующим, что может повлиять на процесс выделения нуклеиновой кислоты.

При использовании концентрированной лейкоцитарной пленки (очищенной и свободной от клеток крови) рекомендуется использовать набор BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit (BS-060201-EK).

Если образец цельной крови богат гранулоцитами (количество лейкоцитов более 2×10^4 клеток/мкл), рекомендуется разбавить образец крови или и ДНК из крови BioMagPure 1200 (BS-060201-ВК) использовать для выделения ДНК набор для выделения.

Хранение нуклеиновой кислоты: при кратковременном хранении (до 10 дней) хранить пробирки при температуре 2–8°C. Однако, если анализы требуют максимального размера фрагментов, например, Саузерн-блоттинг, выделенную ДНК хранить при температуре 2–8°C не более 3 дней, так как по истечении этого времени наблюдается низкий уровень дегградации ДНК. При длительном хранении хранить пробирки при температуре –70°C.

На самом деле выделенный продукт содержит общую нуклеиновую кислоту (ДНК и РНК), однако РНК составляет лишь малую часть в данном наборе (около 10%) и вскоре деградирует. Если требуется продукт, не содержащий РНК, добавьте в элюат РНКазу.

* Для образцов с низким количеством лейкоцитов (менее 1×10^3 клеток/мкл) рекомендуется приготовить концентрат клеток крови, выполнив центрифугирование со скоростью 3000 об./мин в течение 15 мин при температуре 4°C и использовать лейкоцитарный концентрат для выделения ДНК

** Если количество лейкоцитов в образце крови превышает 2×10^4 клеток/мкл, при использовании набора BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 1200 рекомендуется развести образец крови натрий-фосфатным буфером (например, образец цельной крови, взятый у пациента с лимфомой, или другой образец крови/лейкоцитарную пленку, которая богата гранулоцитами)

*** см. Способы контроля/внутренний контроль на странице 12

4.8. Результат

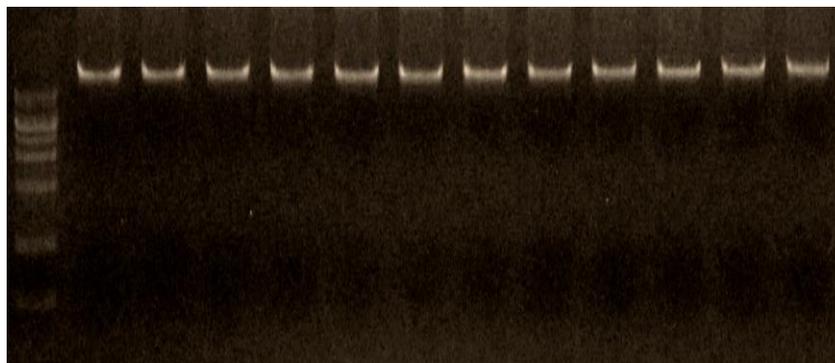
4.8.1. Ожидаемая чистота и количество

ДНК выделяется с помощью набора BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 200 и прибора для выделения BioMagPure, используя пять различных образцов цельной крови человека (в пробирках с ЭДТА-K2). Концентрация ДНК измерялась с помощью спектрометра NanoDrop® 2000. Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 200 позволяет получить 2-18 мкг ДНК (из образца крови с количеством лейкоцитов: 2-20x10³ клеток/мкл). Количество ДНК, полученное из цельной крови, зависит от конкретного донора крови и количества клеток крови. Количество, полученное из клеточной культуры, зависит от типа клеточной линии, так как степень анеуплоидии не является неизменной.

Материал образца	Объем/количество	Полученное количество ДНК	Чистота
Цельная кровь (количество лейкоцитов – 1,8 x 10 ³ /мл)	100 мкл	1-1,2 мкг	OD260/OD280 >=1,8 OD260/OD230 >=1,5
	200 мкл	2-2,1 мкг	
	300 мкл	2,8-3,1 мкг	
	400 мкл	4-4,3 мкг	
Цельная кровь (количество лейкоцитов – 4 x 10 ³ /мкл)	100 мкл	1,6-2,1 мкг	
	200 мкл	3,8-3,9 мкг	
	300 мкл	5,1-5,2 мкг	
	400 мкл	8,5-8,8 мкг	
Цельная кровь (количество лейкоцитов – 6,9 x 10 ³ /мкл)	100 мкл	2,9-3,1 мкг	
	200 мкл	5,8-6,2 мкг	
	300 мкл	8,2-8,8 мкг	
	400 мкл	11,9-12,5 мкг	
Цельная кровь (количество лейкоцитов – 10,9 x 10 ³ /мкл)	100 мкл	4,3-4,6 мкг	
	200 мкл	8,7-9,1 мкг	
	300 мкл	11,5-12,2 мкг	
	400 мкл	16,6-17,5 мкг	
Клетки K562	6 x 10 ⁵ клеток	9-9,6 мкг	
	2 x 10 ⁶ клеток	22-25 мкг	

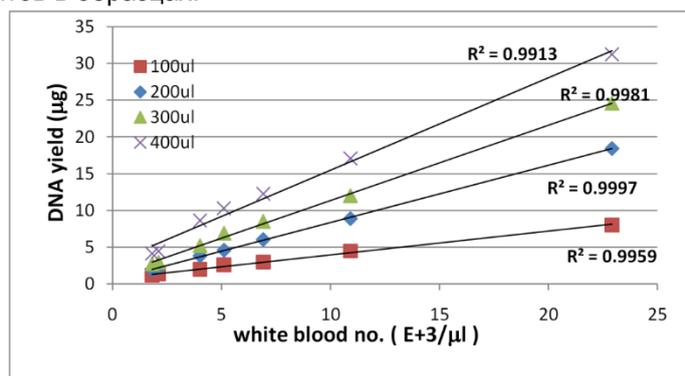
4.9. Целостность

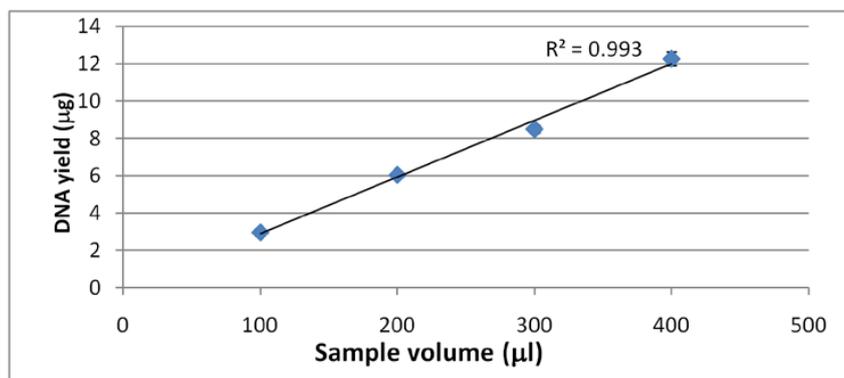
ДНК была изолирована выборками по 12 из 200 мкл цельной крови человека. Объем элюции был настроен на 100 мкл. Целостность ДНК была продемонстрирована, подвергнув элюат электрофорезу в агарозном геле с трис-ацетатным буферным раствором и маркером Lambda/Hind III (фрагментов размером: 0,56, 2,02, 2,32, 4,36, 6,56, 9,42, 23,13 кб). Все образцы образовали одну неразмытую полосу с молекулярной массой более 22 kb.



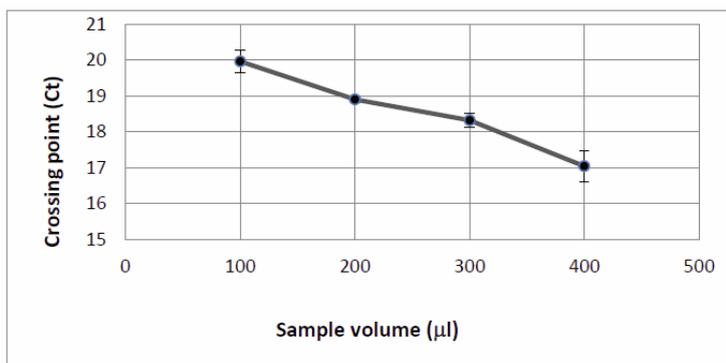
4.10. Масштабируемость

ДНК была изолирована из различных образцов цельной крови (количество лейкоцитов в диапазоне 1,8-22 x 10³ клеток/ мкл). Количество полученной ДНК (измеренное с помощью спектрометра Nanodrop 2000 UV-Vis) демонстрирует отличную масштабируемость при различных объемах выделения (100, 200, 300 и 400 мкл) и количестве лейкоцитов в образцах.



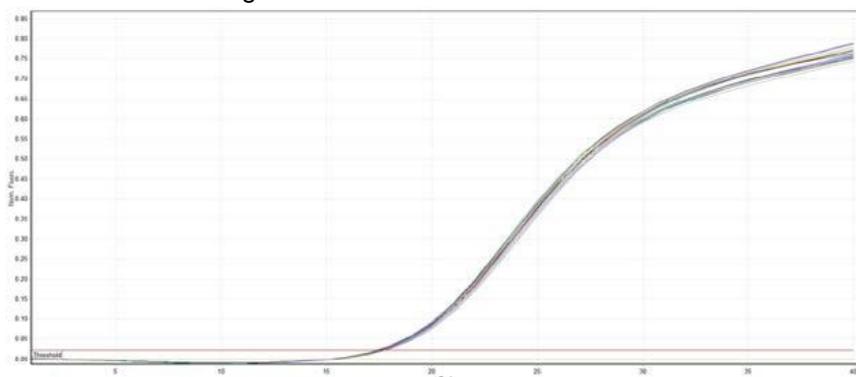


ДНК, изолированная из различных количеств образцов цельной крови, была амплифицирована количественной ПЦР, используя специфичный праймер гена β -глобина. Полученные в результате этого точки пересечения подтверждают масштабируемость при выделении.



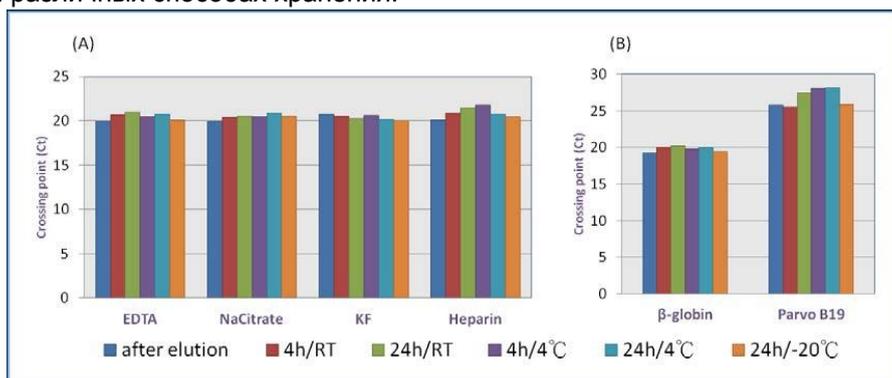
4.11. Воспроизводимость

ДНК была изолирована с помощью набора BioMagPure Blood DNA Extraction Kit из двадцати образцов цельной крови. Ген β -глобина был определен с помощью количественной ПЦР в режиме реального времени. Эти данные свидетельствуют о чрезвычайной стабильности и воспроизводимости системы по выделению нуклеиновых кислот BioMagPure 12s.



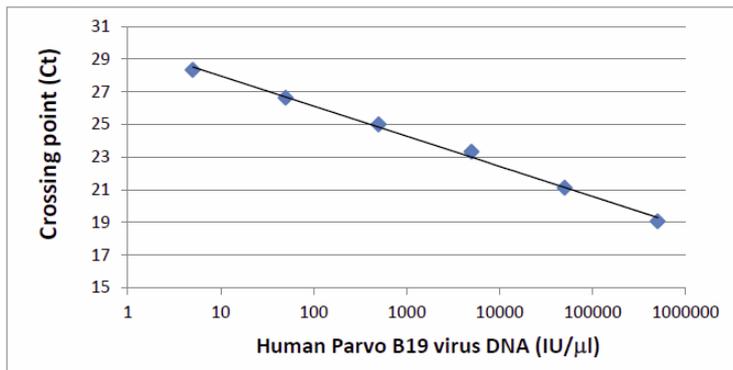
4.12. Стабильность

ДНК была выделена из цельной крови с помощью набора BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 200. Определение β -глобина (A) и меченого ДНК парвовируса В-19 (A, B) количественной ПЦР в режиме реального времени. Не наблюдалось значительного влияния на образцы при использовании различных антикоагулянтов и различных способах хранения.



4.13. Чувствительность

Используя цельную кровь (в пробирке с ЭДТА), меченную серийно разведенным парвовирусом B19 человека (в диапазоне 25-2500000 МЕ/мл). 200 мкл образца были выделены и элюированы в 100 мкл. 10 мкл элюата использовались для ПЦР в режиме реального времени с использованием набора RealStar® Parvovirus B19 PCR kit 1.0. Имеется возможность выявить маркированный образец в 5 МЕ (около 1 МЕ в ПЦР), что подтверждает отличную чувствительность и линейность процедуры изоляции.



4.14. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих способов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

4.15. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Blood DNA Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

5. Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 1200

№ по кат. BS-060201-ВК

Время обработки: BioMagPure 12S – 70-100 минут

BioMagPure 24 – 70-120 минут

5.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit используется для выделения геномной ДНК из 400-1000 мкл крови млекопитающих, суспензии клеток крови млекопитающих с помощью прибора BioMagPure.

5.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Blood DNA Extraction Kit, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов и Саузерн-блоттинг.

5.3. Количество тестов

48 выделений

5.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-ВК-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокальватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

5.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка 1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Раствор протеиназы К	50 мкл
Ячейка-2	Лизирующий буфер 2	1500 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	1000 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1500 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Элюирующий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-9	Элюирующий буфер 2	1000 мкл
Ячейка-10	Пусто	

5.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 1200 необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентом. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

До выполнения следующего анализа выделенную нуклеиновую кислоту или аликвотные пробы хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение, до 10 дней) или при температуре –70°C (длительное хранение).

5.7. Исходный материал

Тип образца	Образец большого объема (400-1000 мкл) цельной крови млекопитающих, лейкоцитарной пленки
Выделяемая нуклеиновая кислота	Общая ДНК (геномная ДНК, митохондриальная ДНК и вирусная ДНК) *
Объем образца	400-1000 мкл цельной крови (количество лейкоцитов менее 4×10^4 клеток/мкл); 400-1000 мкл лейкоцитарной пленки*
Способы контроля/дополнительный внутренний контроль**	Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль
Объем элюции	100-400 мкл***

Набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit работает со свежими и замороженными образцами крови в пробирках с обычными антикоагулянтами, например, ЭДТА, гепарином* и цитратом (*В качестве антикоагулянта рекомендуется использовать ЭДТА, так как гепарин замедляет реакцию амплификации нуклеиновых кислот).

Если объем образца менее 400 мкл или количество лейкоцитов выше (более 40000 клеток/мкл), добавьте соответствующий объем натрий-фосфатного буфера, чтобы его откорректировать.

Данный протокол был разработан для изолирования ДНК из цельной крови здорового человека, в случае нездорового человека или человека, принимающего лекарства (например, пациентов с лейкемией или инфекционным заболеванием), качество крови может быть несоответствующим, что может повлиять на процесс выделения нуклеиновой кислоты.

Для выделения рекомендуется использовать образец цельной крови (не старше 1 недели, который хранился при температуре 4-8°C), так как количество и качество выделяемой нуклеиновой кислоты со временем снижается. Если требуется более длительное хранение, цельную кровь необходимо заморозить и не подвергать разморозке и повторной заморозке.

При кратковременном хранении (до 10 дней) хранить пробирки при температуре 2–8°C. Однако, если анализы требуют максимального размера фрагментов, например, Саузерн-блоттинг, выделенную

ДНК хранить при температуре 2–8°C не более 3 дней, так как по истечении этого времени наблюдается незначительный уровень деградации ДНК.

При длительном хранении хранить выделенную ДНК при температуре –70°C.

Фактически, выделенный продукт содержит общую нуклеиновую кислоту (ДНК и РНК), однако РНК составляет лишь малую часть в данном наборе (около 10%) и вскорости деградирует. Если требуется продукт, не содержащий РНК, добавьте в элюат РНКазу.

5.8. Ожидаемая чистота и количество

ДНК была выделена с помощью набора BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 1200 и прибора для выделения BioMagPure с использованием четырех различных образцов крови. Концентрация ДНК измерялась с помощью спектрометра NanoDrop® 2000. Диапазон полученной ДНК составил 2-200 мкг (в диапазоне лейкоцитов $2-40 \times 10^3$ клеток/мкл). Количество ДНК, полученное из цельной крови, зависело от конкретного донора крови и количества клеток крови. Количество, полученное из клеточной культуры, зависело от типа клеточной линии, так как степень анеуплоидии не было неизменной.

Материал образца	Объем/количество	Количество полученной ДНК	Чистота
Цельная кровь (количество лейкоцитов – 6×10^3 /мл)	400 мкл	9,5-11,5 мкг	OD260/OD280 $\geq 1,7$ OD260/OD230 $\geq 1,5$
	1000 мкл	25-30 мкг	
Цельная кровь (количество лейкоцитов – 11×10^3 /мкл)	400 мкл	18-19 мкг	
	1000 мкл	45-55 мкг	
Цельная кровь (количество лейкоцитов – 25×10^3 /мкл)	400 мкл	35-40 мкг	
	1000 мкл	80-100 мкг	
Цельная кровь (количество лейкоцитов – 40×10^3 /мкл)	1000 мкл	120-180 мкг***	
	Лейкоцитарная пленка	100 мкл 200 мкл	10-30 мкг 20-60 мкг

* Если количество лейкоцитов в образце цельной крови превышает 4×10^4 клеток/мкл, рекомендуется разбавить образец натрий-фосфатным буфером или физиологическим раствором.

** см. Способы контроля/внутренний контроль на странице 15

*** Для образцов, количество лейкоцитов в которых > 30000 /мкл, рекомендуется настроить объем элюции более чем на 200 мкл

5.9. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих способов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

5.10. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Blood DNA Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

6. Набор BioMagPure Viral Nucleic Acid Extraction Kit

№ по кат. BS-060201-СК

Время обработки: BioMagPure 12S – 40-55 минут

BioMagPure 24 – 40-60 минут

6.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Viral Nucleic Acid Extraction Kit используется для выделения ДНК или РНК вируса из биологических образцов человека, например, сыворотки, плазмы или других бесклеточных жидкостей.

6.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Viral Nucleic Acid Extraction Kit, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

6.3. Количество тестов

48 выделений

6.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-СК-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокальватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Нагрузочная РНК (1 мг)	1 шт.
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

6.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка1	Ячейка 2	Ячейка 3	Ячейка 4	Ячейка 5	Ячейка 6	Ячейка 7	Ячейка 8	Ячейка 9	Ячейка 10
Ячейка-1				Раствор протеиназы К					30 мкл
Ячейка-2				Лизирующий буфер 4					720 мкл
Ячейка-3				Связывающий буфер 1					1000 мкл
Ячейка-4				Раствор магнитных частиц					800 мкл
Ячейка-5				Отмывочный буфер 1					1000 мкл
Ячейка-6				Отмывочный буфер 2					1000 мкл
Ячейка-7				Отмывочный буфер 3					1000 мкл
Ячейка-8				Очищенная от РНКаз вода					1000 мкл
Ячейка-9				Очищенная от РНКаз вода					1000 мкл
Ячейка-10				Пусто					

6.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Viral Nucleic Acid Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

После разведения нагрузочной РНК хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение до 1 месяца) или -20°C (длительное хранение). Нельзя размораживать и повторно замораживать нагрузочную РНК более 3 раз.

Хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 24 часов) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

6.7. Исходный материал

Тип образца	Выделяемая нуклеиновая кислота	Объем образца (Количество исходного материала)	Объем
Сыворотка	Общие нуклеиновые кислоты вирусов (ДНК + РНК)	100-400 мкл	50-300 мкл
Плазма			
СМЖ			
Предварительно обработанная моча			
Бесклеточные жидкости организма			
Способы контроля/ внутренний контроль*	Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль		

Набор предназначен для выделения нуклеиновых кислот вирусов (например, ВИЧ, гепатита С, гепатита В, ЦМВ и ЭБВ) из плазмы или сыворотки или других бесклеточных жидкостей организма.

После выделения хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 24 часов) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

6.8. Подготовка образцов

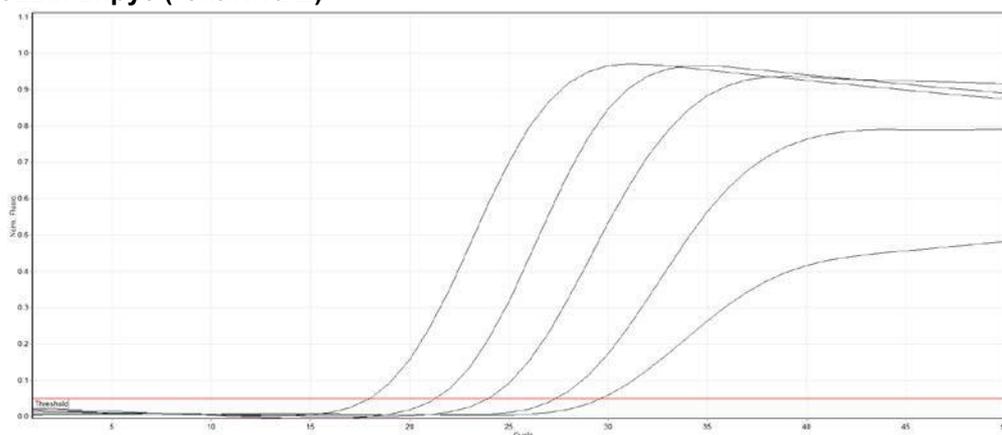
Процесс выделения оптимизирован для использования 100-400 мкл сыворотки, плазмы, СМЖ и предварительно обработанных образцов мочи. (Для подготовки плазмы можно использовать образцы крови, обработанные ЭДТА или цитратом в качестве антикоагулянта.)

Образцы могут быть свежими или замороженными, при условии, что они не подвергались разморозке и повторной заморозке.

После сбора и центрифугирования плазму, сыворотку или СМЖ можно хранить при температуре 2–8°C до 6 часов. Если необходимо более длительное хранение, рекомендуется заморозить аликвотные пробы и хранить при температуре –20°C или –80°C. Размораживать пробы необходимо при комнатной температуре (15-25°C), и обрабатывать образцы сразу же после достижения ими комнатной температуры. Повторно замораживать аликвотные пробы после разморозки запрещено. Повторная заморозка приводит к денатурации и преципитации белков, что, в свою очередь, приведет к снижению титра вирусов и, следовательно, к снижению выхода нуклеиновых кислот вируса. Если в образцах визуализируется криопреципитат, их необходимо центрифугировать при 6800 x g в течение 3 минут, переместить надосадочную жидкость в чистые пробирки, не захватывая осадок, и сразу же начать процесс выделения

6.9. Результат

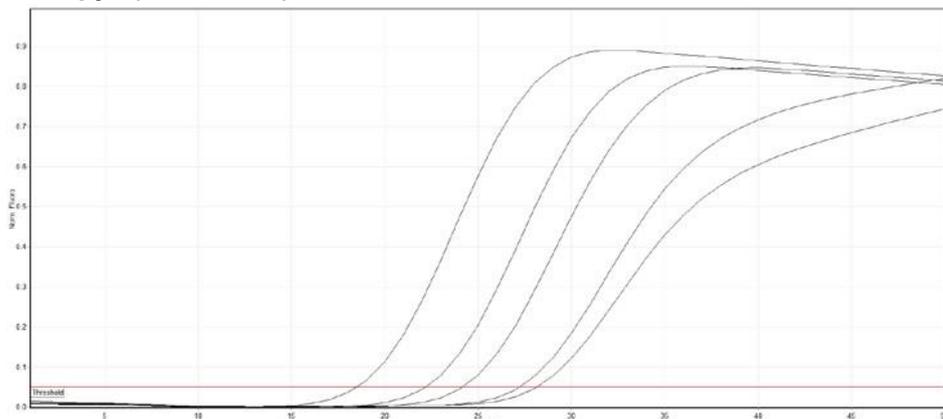
6.9.1. ДНК-вирус (гепатита В)



Используя сыворотку, меченную серийно разведенным вирусом гепатита В (в диапазоне 300000-30 МЕ/мл), 200 мкл образца были выделены и элюированы в 100 мкл. 30 мкл элюата использовалось для ПЦР в режиме реального времени с использованием набора HCV/HBV/HIV-FRT PCR AmpliSens®. Имеется возможность выявить маркированный образец размером менее 6 МЕ (около 1 МЕ в ПЦР), что подтверждает отличную чувствительность и линейность процедуры изоляции.

* см. Способы контроля/внутренний контроль на странице 18

6.9.2. РНКовый вирус (гепатита С)



Используя сыворотку, меченную серийно разведенным вирусом гепатита С (в диапазоне 500000-50 МЕ/мл), 200 мкл образца были выделены и элюированы в 100 мкл. 30 мкл элюата использовалось для ПЦР в режиме реального времени с использованием набора HCV/HBV/HIV-FRT PCR AmpliSens®. Имеется возможность выявить маркированный образец размером менее 10 МЕ (около 3 МЕ в ПЦР), что подтверждает отличную чувствительность и линейность процедуры изоляции.

6.10. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих видов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	Поместите в пробирку с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

6.11. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Viral Nucleic Acid Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

7. Набор BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit

№ по кат. BS-060201-DK

Время обработки: BioMagPure 12S – 45-55 минут

BioMagPure 24 – 45-60 минут

7.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit используется для выделения геномной ДНК из различных тканей, мазков и пятен крови животных

Для выделения из образцов парафиновых срезов фиксированной в формалине ткани рекомендуется использовать «BS-060201-JK Набор BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit».

7.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг.

7.3. Количество тестов

48 выделений

7.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-DK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокалыватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Протеиназа К (10 мг/мл)	1 шт. (1 мл)
Буфер BL2	1 шт. (25 мл)
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

7.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка 1	Ячейка 2	Ячейка 3	Ячейка 4	Ячейка 5	Ячейка 6	Ячейка 7	Ячейка 8	Ячейка 9	Ячейка 10
Ячейка-1	Пусто								
Ячейка-2	Лизирующий буфер 3							720 мкл	
Ячейка-3	Связывающий буфер 1							720 мкл	
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц							800 мкл	
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1							1000 мкл	
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2							1000 мкл	
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3							1000 мкл	
Ячейка-8	Элюирующий буфер 1							1000 мкл	
Ячейка-9	Элюирующий буфер 2							1000 мкл	
Ячейка-10	Пусто								

7.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

До выполнения следующего анализа выделенную нуклеиновую кислоту или аликвотные пробы хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение, до 10 дней) или при температуре –70°C (длительное хранение).

7.7. Исходный материал

Типы и количества исходного материала для использования в процессе выделения ДНК из тканей с помощью BioMagPure приведены в таблице ниже.

Тип образца	Выделяемая нуклеиновая кислота	Объем образца (Количество исходного материала)	Объем
Ткань	ДНК	100-400 мкл/10-40 мг	50-300 мкл
Высушенные мазки (например, клетки буккального эпителия)		100-400 мкл/1 мазок или щеточка (для выделения добавить к 100-400 мкл BL2 и протеиназу К)	
Высушенная кровь		100-400 мкл/4 диска*	
Способы контроля/дополнительный внутренний контроль**	Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль		

7.8. Количество выделенной ДНК

Количество ДНК зависит от типа образца, количества ядросодержащих клеток в образце и использованного для выделения ДНК протокола.

В таблице ниже приведено количество ДНК, которое можно получить из различных типов образцов, используя процессы выделения BioMagPure. Таблица: Количество ДНК из различных типов образцов

Тип образца	Количество образца	Типичное полученное количество ДНК
Скелетная мышца	200 мкл (обработано 40 мг ткани)	До 9 мкг
Сердце	200 мкл (обработано 20 мг ткани)	До 12 мкг
Селезенка	200 мкл (обработано 10 мг ткани)	До 27 мкг
Легкое	200 мкл (обработано 10 мг ткани)	До 17 мкг
Почка	200 мкл (обработано 10 мг ткани)	До 18 мкг
Печень	200 мкл (обработано 10 мг ткани)	До 40 мкг
Клетки буккального эпителия	1 мазок	1-5 мкг
Высушенная кровь	4 диска 3 мм в диаметре	0,2-0,5 мкг

Требования к подготовке образца могут существенно различаться в зависимости от типа исходного материала. Различия в консистенции и вязкости приводят к необходимости индивидуального подхода при работе с исследуемыми образцами. Ниже приведены рекомендации по обработке первичных образцов.

7.9. Подготовка образца

Для выделения ДНК из образцов парафиновых срезов фиксированной в формалине ткани рекомендуется использовать набор BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit (BS-060201-JK).

Для изолирования геномной ДНК из ткани важно эффективное измельчение и гомогенизация материала образца. С другой стороны, слишком сильное измельчение и гомогенизация приведут к фрагментации геномной ДНК с высокой молекулярной массой.

Подготовьте свежий лизат ткани и сразу же приступайте к процессу выделения. Храните лизат при температуре от -15 до -20°C или еще более низкой температуре, если выделение ДНК будет производиться не сразу.

В случае ткани, богатой РНК (например, ткани с высокой экспрессией генов, таких, как печень и опухоль), добавьте РНКазу после инкубации с протеиназой К, чтобы деградировать РНК и увеличить количество выделяемой ДНК.

Для твердых тканей животных			
1. Перенос ткани ↓	Перенесите ткань в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку, например:		
	№	Тип образца***	Рекомендуемое количество образца****
	1	Сердце	20 мг
	2	Мышца	40 мг
	3	Другие ткани	10 мг
2. Добавить буфер BL2 ↓	Добавьте 220-440 мкл предоставленного буфера BL2. Убедитесь, что кусочки ткани полностью погружены в буфер BL2		
3. Добавить протеиназу К ↓	Добавьте 20 мкл раствора протеиназы К и смешайте методом вортексирования		

* Диск диаметром 3 мм, изготовленный из фильтровальной бумаги, смазанной высушенной кровью, содержит лейкоциты примерно из 5 мкл цельной крови; в качестве исходного материала рекомендуется использовать 4 изготовленных диска.

** см. Способы контроля/внутренний контроль на странице 22

*** Если порезать ткань на кусочки или использовать гомогенизатор, улучшится эффективность лизиса и увеличится количество полученной ДНК

**** В случае использования большего количества, чем рекомендуется, может потребоваться увеличить количество BL2/протеиназы К (только если ткань не может быть полностью лизирована)

4. Инкубация ↓	Инкубируйте при температуре 55°C в водяной бане-шейкере или термомиксере (смешивание со скоростью 1000 об./мин) пока ткань полностью не лизируется Примечание Время лизиса зависит от типа обрабатываемой ткани. Лизис обычно происходит за 1-2 ч. Однако, можно лизировать ткань и всю ночь и это не влияет на препарат. Если для инкубации используется термоблок, рекомендуется вортексировать-смешивать несколько раз
5. Обработка РНКазой (не обязательно) ↓	Инактивируйте протеиназу К, увеличив температуру до 70°C, 10 мин. Добавьте РНКазу А (не входит в набор) в лизат, инкубируйте 10 мин.
6. Осаждение путем центрифугирования и перенос	Осадите путем центрифугирования и перенесите чистую надосадочную жидкость в пробирку для образца. Для корректировки объема образца использовать буфер BL2. Выполните выделение ДНК из тканей. (Не обязательно) Если перед выделением ДНК удалить лишний дебрис и материалы слизистой с помощью колонки для фильтрации (ZA030118, в набор не входит), полученное количество ДНК увеличится (на 20-100%).

Для мазковых проб	
1. Вырезать ↓	Аккуратно отрежьте или отломайте конец мазка или щеточки и поместите его в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку с помощью соответствующего инструмента (например, ножниц).
2. Добавить буфер BL2 ↓	Добавьте 220-440 мкл предоставленного буфера BL2. Убедитесь, что кусочки ткани полностью погружены в буфер BL2
3. Добавить протеиназу К ↓	Добавьте 20 мкл раствора протеиназы К и смешайте методом вортексирования Примечание При обработке образцов со щеточки с клетками буккального эпителия коротко центрифугируйте пробирку (10000 x g, в течение 30 с), чтобы щеточка переместилась на дно пробирки
4. Инкубация ↓	Инкубируйте при температуре 55°C в водяной бане-шейкере или термомиксере (смешивание со скоростью 1000 об./мин.), пока ткань полностью не лизируется Примечание 3. Время лизиса зависит от типа обрабатываемой ткани. Лизис обычно происходит за 1-2 ч. Однако, можно лизировать ткань и всю ночь и это не влияет на препарат Если для инкубации используется термоблок, рекомендуется вортексировать-смешивать несколько раз
5. Центрифугировать ↓	Осадите пробирку путем краткого центрифугирования, чтобы удалить капли с крышки
6. Удалить ↓	Удалите мазок или щеточку из пробирки. Прижмите мазок или щеточку щипцами внутри пробирки, чтобы получить максимальный объем образца. Объем образца должен быть примерно таким же, как заданный объем (200-400 мкл). Откорректируйте, добавив буфер BL2
7. Перенос	Перенесите в пробирку для образца, выполните выделение ДНК из тканей

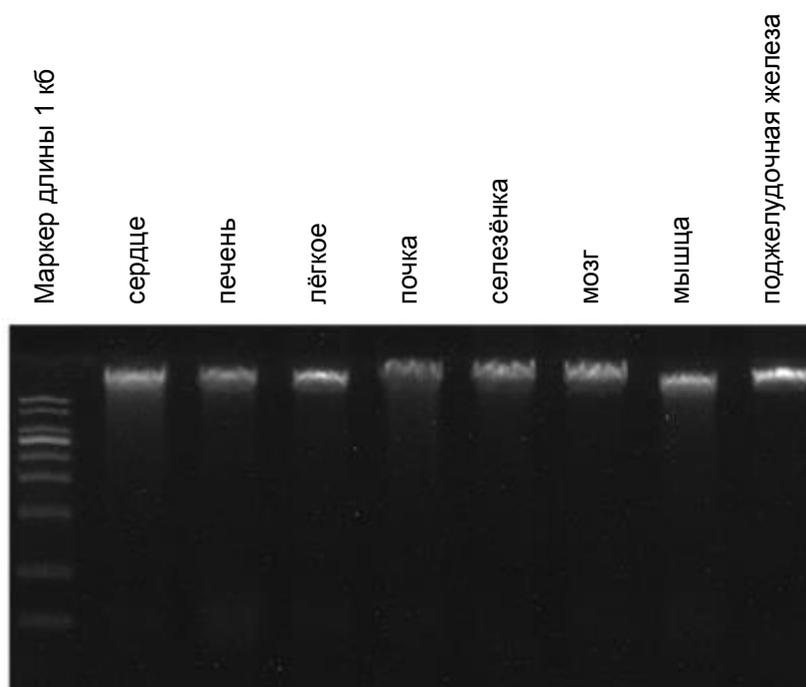
Высушенная кровь	
1. Собрать ↓	Соберите 70 мкл каждого образца крови в отмеченное на фильтровальной бумаге кольцо. Дайте крови высохнуть на воздухе. Примечание Можно использовать необработанную кровь или кровь, содержащую антикоагулянт (например, ЭДТА, АСД или гепарин)
2. Вырезать ↓	Для каждого образца высушенной крови использовать ручной бумажный дырокол, чтобы вырезать диски 3 мм в диаметре
3. Добавить BL2 ↓	Перенесите каждый набор из четырех дисков в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку. Добавьте в образец 220-440 мкл BL2
4. Добавить протеиназу К ↓	Добавьте 20 мкл протеиназы К и смешайте методом вортиксирования
5. Инкубация ↓	Инкубируйте при температуре 55°C 15 мин в термомиксере (настройте на 1000 об./мин) или вортиксируйте несколько раз во время инкубации в термоблоке
6. Центрифугировать ↓	Кратко центрифугируйте пробирку, чтобы удалить капли внутри крышки
7. Перенос	Перенесите 200-400 мкл надосадочной жидкости в пробирку для образца, выполните выделение ДНК из тканей

7.10. Результат

7.10.1. Эффективность

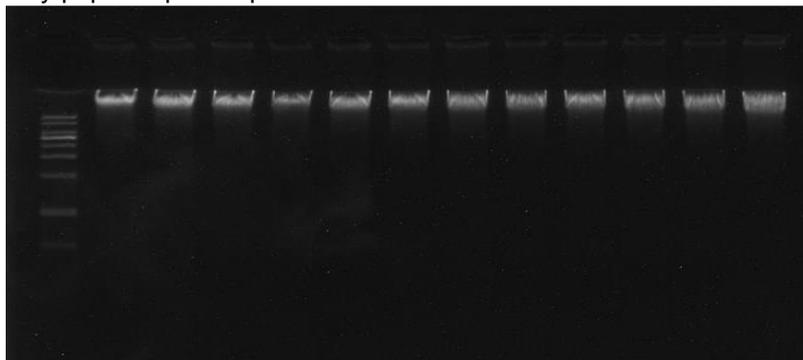
Использование набора BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit, чтобы выделить мышинные ткани, результаты были получены с помощью спектрофотометра Nanodrop 2000 и агарозного геля с трис-ацетатным буферным раствором.

Тип ткани	Общее количество полученной нуклеиновой кислоты (мкг)	Полученное количество ДНК (мкг) (После обработки РНКазы)
Сердце – 10 мг	12-20	6-13
Печень – 10 мг	25-40	10-20
Легкое – 10 мг	7-15	9-14
Почка – 10 мг	30-40	20-30
Селезенка – 10 мг	20-40	15-30
Головной мозг – 10 мг	15-20	12-15
Мышца – 10 мг	4-8	3-5
Поджелудочная железа – 10 мг	3-5	3-5
Хвост – 10 мг	7-12	5-10
Ухо – 10 мг	15-20	14-20



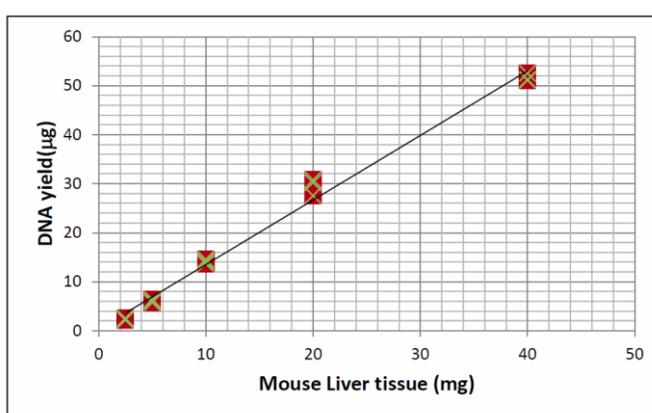
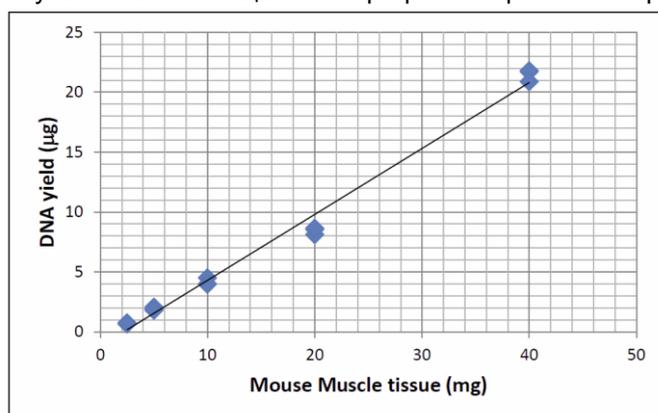
7.10.2. Воспроизводимость

В качестве образцов использовать 10 мг мышинной ткани (легкое). Анализ результатов по агарозному гелю с трис-ацетатным буферным раствором.



7.10.3. Масштабируемость

Использовать различное количество ткани мышинной печени и мышц в качестве образцов. Анализ результатов с помощью спектрофотометра Nanodrop 2000.



7.11. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих видов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

7.12. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

8. Набор BioMagPure Cultured Cell DNA Extraction Kit

№ по кат. BS-060201-EK

Время обработки: BioMagPure 12S – 45-55 минут

BioMagPure 24 – 45-60 минут

8.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Cultured Cell DNA Extraction Kit используется для выделения геномной ДНК из клеточных культур и лейкоцитарной пленки.

8.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Cultured Cell DNA Extraction Kit, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

8.3. Количество тестов

48 выделений

8.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-EK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокальватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

8.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка 1	Ячейка 2	Ячейка 3	Ячейка 4	Ячейка 5	Ячейка 6	Ячейка 7	Ячейка 8	Ячейка 9	Ячейка 10
Ячейка-1				Раствор протеиназы К					40 мкл
Ячейка-2				Лизирующий буфер 3					720 мкл
Ячейка-3				Связывающий буфер 1					720 мкл
Ячейка-4				Раствор магнитных частиц					800 мкл
Ячейка-5				Отмывочный буфер 1					1000 мкл
Ячейка-6				Отмывочный буфер 2					1000 мкл
Ячейка-7				Отмывочный буфер 3					1000 мкл
Ячейка-8				Элюирующий буфер 1					1000 мкл
Ячейка-9				Элюирующий буфер 2					1000 мкл
Ячейка-10				Пусто					

8.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Cultured Cell DNA Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

До выполнения следующего анализа выделенную нуклеиновую кислоту или аликвотные пробы хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение, до 10 дней) или при температуре –70°C (длительное хранение).

8.7. Исходный материал

8.7.1. Клеточные культуры в суспензии и в монослое

8.7.2. Клетки из лейкоцитарной пленки (без эритроцитов)

Если лейкоцитарная пленка снята прямо с цельной крови, для полного удаления и лизирования эритроцитов рекомендуется использовать набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit (BS-060201-AK; BS-060201-BK).

При нормальном наборе хромосом не использовать более 5×10^6 клеток.

Количество клеток можно определить при помощи гемоцитометра ^{1,2}(камера Петрова-Хауссера) и автоматического устройства для подсчета клеток (например, TC10™, Countess®, Cellometer® и Scepter™).

Типы и количества исходного материала для использования в процессе выделения ДНК из клеточных культур с помощью BioMagPure приведены в таблице ниже.

Ссылки

http://www.smccd.edu/accounts/case/biol230/algae/hemo_cytometer1.pdf

<http://web.mnstate.edu/provost/CountingCellsHemocytometer.pdf>

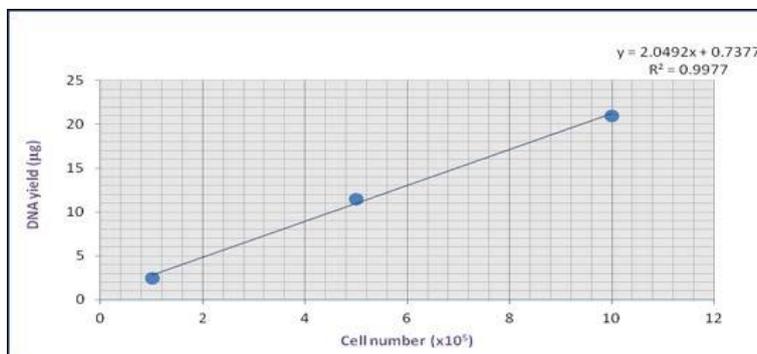
8.8. Подготовка образца

Клетки, выращенные в суспензии	Суспензионная культура: Определите количество клеток. (При нормальном наборе хромосом не использовать более 5×10^6 клеток). Центрифугируйте соответствующее количество клеток в течение 5 мин при $1000 \times g$ в 1,5 мл микроцентрифужной пробирке. Полностью снимите и выбросите надосадочную жидкость, не трогая клеточную массу. Снова суспендируйте клеточную массу в натрий-фосфатном буфере, чтобы получить окончательный объем 200 мкл
Клетки, выращенные в монослое	Клетки, выращенные в монослое, можно отсоединить от колбы с культурой путем трипсинизация или с помощью клеточного скребка
	Для трипсинизации клеток: Определите количество клеток (при нормальном наборе хромосом не использовать более 5×10^6 клеток). Аспирируйте среду и промойте клетки натрий-фосфатным буфером. Аспирируйте натрий-фосфатный буфер и добавьте 0,10-0,25% трипсин, инкубируйте при 37°C . Когда клетки отделятся от чашки или колбы, соберите их в среде и перенесите соответствующее количество клеток в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку. Центрифугируйте 5 мин при $1000 \times g$. Полностью снимите и выбросите надосадочную жидкость, не трогая клеточную массу. Снова суспендируйте клеточную массу в натрий-фосфатном буфере, чтобы получить окончательный объем 200 мкл
	Использование клеточного скребка: Определите количество клеток. (при нормальном наборе хромосом не использовать более 5×10^6 клеток). Скребок отделите клетки от чашки или колбы. Соберите и перенесите клетки в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку и центрифугируйте 5 мин при $1000 \times g$. Полностью снимите и выбросите надосадочную жидкость, не трогая клеточную массу. Снова суспендируйте клеточную массу в натрий-фосфатном буфере, чтобы получить окончательный объем 200 мкл

8.9. Количество выделенной ДНК

Количество ДНК зависит от типа образца, количества ядросодержащих клеток в образце и использованного для выделения ДНК протокола.

Например, среднее количество ДНК, полученное с линии клеток HT29 аденокарциномы толстой кишки, при различных концентрациях (в диапазоне от 1×10^5 до 10^6 клеток) составляет 22 мкг/ 10^6 клеток, как показано ниже.



8.10. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Cultured Cell DNA Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

9. Набор BioMagPure Bacterial DNA Extraction Kit

№ по кат. BS-060201-FK

Время обработки: BioMagPure 12S – 55-65 минут

BioMagPure 24 – 55-75 минут

9.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Bacterial DNA Extraction Kit используется для выделения геномной ДНК из грамположительных и грамотрицательных бактерий.

9.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Bacterial DNA Extraction Kit, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

9.3. Количество тестов

48 выделений

9.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-FK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокалыватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Буфер BL2B (25 мл)	1 шт.
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

9.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Раствор протеиназы K	40 мкл
Ячейка-2	Лизирующий буфер 3	720 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	720 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1000 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Элюирующий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-9	Элюирующий буфер 2	1000 мкл
Ячейка-10	Пусто	

9.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Bacterial DNA Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

До выполнения следующего анализа выделенную нуклеиновую кислоту или аликвотные пробы хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение, до 10 дней) или при температуре –70°C (длительное хранение).

9.7. Исходный материал

Бактериальный осадок/колония из культуры, бесклеточных жидкостей организма, жидкой транспортной среды, мочи, материалов из окружающей среды (воды, почвы и т.д.).

При использовании в качестве образцов парафиновых срезов ткани рекомендуется выделять ДНК при помощи набора BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit (BS-060201-JK).

При использовании в качестве образцов тканей рекомендуется использовать набор BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit.

Типы и количества исходного материала для использования в процессе выделения ДНК из бактерий с помощью BioMagPure приведены в таблице ниже.

Тип образца	Выделяемая	Объем образца (Количество исходного материала)	Объем элюции
Бактериальный осадок	Геномная ДНК	200-400 мкл / До 10 ⁹ бактерий (около OD600 = 3)	50-300 мкл
Бактериальная колония		200-400 мкл /1-3 колонии	
Ткань		200-400 мкл /1-30 мг	
Моча		200-400 мкл /5-50 мл мочи	
Бесклеточные жидкости организма		200-400 мкл бесклеточных жидкостей организма	
Жидкая транспортная среда		200-400 мкл жидкой транспортной среды	
ПРИМЕЧАНИЕ: Перед выделением откорректируйте объем образца буфером BL2B			

9.8. Подготовка образца

Требования к подготовке образца могут существенно различаться в зависимости от типа исходного материала. Различия в консистенции и вязкости приводят к необходимости индивидуального подхода при работе с исследуемыми.

Буфер BL2B специально предназначен для лизирования стенок клеток бактерий* (входит в набор), его необходимо использовать для повторного суспендирования бактериального осадка перед процессом выделения.

Для *Mycobacterium spp.* (например, туберкулезных микобактерий), используйте буфер BL3 для лизирования стенок клеток бактерий (буфер BL3 входит в набор BS-060201-IK BioMagPure TB DNA Extraction Kit).

Для некоторых типов образцов (например, кала, тканей животных) или бактерий (например, грамположительных бактерий) перед выделением необходимо использовать гомогенизатор. Он поможет разрушать стенки клеток и увеличит количество полученной ДНК.

Ниже приведены рекомендации по обработке первичных образцов перед выделением нуклеиновой кислоты:

Таблица: Подготовка материала образца к выделению нуклеиновой кислоты бактерий

Тип образца	Процедура
Для вязких образцов например, БАЛ, мокрота или другой образец слизистой	<p>Рекомендуемая предварительная обработка: Сжижение</p> <p>Подготовьте свежий стоковый раствор дитиотреитола к сжижению* (например, 5× конц. стокового раствора дитиотреитола составляет 0,75%)</p> <p>Откорректируйте окончательную концентрацию дитиотреитола в образце на 0,15%, добавив стоковый раствор дитиотреитола</p> <p>Инкубируйте образец (например, шейкированием при 850 об./мин в течение 30 мин при температуре 37°C), чтобы его можно было перемещать с помощью пипетки</p> <p>Создайте осадок центрифугированием при 14000 × g в течение 10 мин. Удалите надосадочную жидкость, снова суспендируйте осадок в 220 мкл буфера BL2B</p> <p>Перенесите 200 мкл суспензии в пробирку для образцов (входит в набор)</p> <p>*Сжижение можно произвести, используя другие растворы, например, NALC (N-Ацетил-L-Цистеин)-NaOH или другие вещества, которые могут растворять слизистый материал</p>
Для жидких образцов большего объема, содержащих малое или неизвестное количество бактерий например, мочи, воды из бассейна/ручья/водопровода	<p>Рекомендуемая предварительная обработка: Центрифугирование</p> <p>Центрифугируйте образец в течение 10 мин при 20000 × g, чтобы сконцентрировать бактериальные клетки в осадке</p> <p>Удалите надосадочную жидкость, снова суспендируйте осадок в 220 мкл буфера BL2B*</p> <p>Перенесите 200 мкл суспензии в пробирку для образца (входит в набор)</p>
Для бесклеточных жидкостей организма (например, СМЖ, БАЛ, аспираты)	<p>Рекомендуемая предварительная обработка: Центрифугирование</p> <p>1-й метод</p> <p>Создайте осадок центрифугированием при 14000 × g в течение 10 мин</p> <p>Повторно суспендируйте бактериальный осадок в 220 мкл буфера BL2B</p> <p>Перенесите 200 мкл суспензии в пробирку для образца (входит в набор)</p> <p>2-й метод – Без центрифугирования</p> <p>Перенесите 200 мкл образца в 1,5 мл центрифужную пробирку</p>

* Если в осадке виден песок или другие частицы, снова центрифугируйте после обработки буфером BL2B или отфильтруйте пыли

	<p>Добавьте в образец 200 мкл буфера BL2B (1:1) Вортексируйте-смешивайте 5-10 с Перенесите 400 мкл образца в пробирку для образца (входит в набор)</p>
<p>Для мазков например, мазок из глаз, носа, глотки или другие мазки</p>	<p>1-й метод Соберите образцы и поместите в 2 мл натрий-фосфатного буфера, содержащего общий фунгицид. Инкубируйте в течение 30 мин при комнатной температуре Создайте осадок центрифугированием при 14000 x g в течение 10 мин. Повторно суспендируйте бактериальный осадок в 220 мкл буфера BL2B (входит в набор) Перенесите 200 мкл суспензии в пробирку для образца (входит в набор)</p> <p>2-й метод – без центрифугирования Поместите мазок с образцом с 440 мкл буфера BL2B, инкубируйте в течение 30 мин при комнатной температуре Перенесите 400 мкл в пробирку для образца</p>
<p>Для некоторых видов грамположительных бактерий. Особенно для образцов с содержанием частиц например, кал</p>	<p>Рекомендуемая предварительная обработка: Механическая гомогенизация</p> <p>Выполните обычные процедуры гомогенизации в лаборатории. Для некоторых типов образцов количество полученной ДНК можно увеличить, выполнив гомогенизацию перед добавлением буфера BL2B и протеиназы К</p>
<p>Выделение геномной ДНК из бактериальной суспензионной культуры</p>	<p>Капните пипеткой 1 мл бактериальной культуры в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку и центрифугируйте 5 мин при 5000 x g Удалите надосадочную жидкость Добавьте 220 мкл буфера BL2B в осадок и смешивайте методом вортексирования в течение 5-10 с Перенесите 200 мкл суспензии в пробирку для образца (входит в набор)</p>
<p>Выделение геномной ДНК из бактериального посева культуры</p>	<p>Бактериологической петлей возьмите 1-3 колонии бактерий из посева культуры и энергичным перемешиванием суспендируйте в 220 мкл буфера BL2B Перенесите 200 мкл суспензии в пробирку для образца (входит в набор)</p>
<p>Для инактивации патогенных организмов в образце</p>	<p>Рекомендуемая предварительная обработка: Кипячение</p> <p>Инкубируйте образцы при температуре 95°C в течение 10 мин. Коротко центрифугируйте, чтобы весь объем образца скопился на дне пробирки Дайте образцам остыть и охладиться на льду, затем перенесите 100-400 мкл охлажденного образца в пробирку для образца</p>

9.9. Количество выделенной ДНК

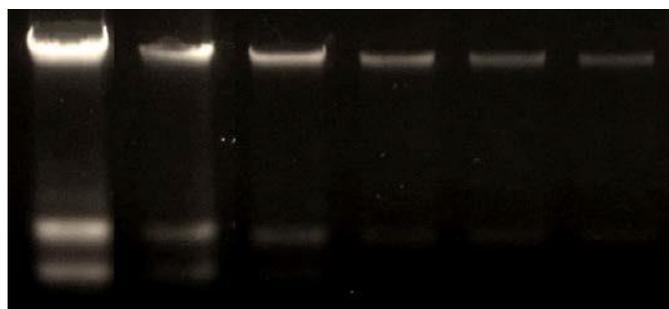
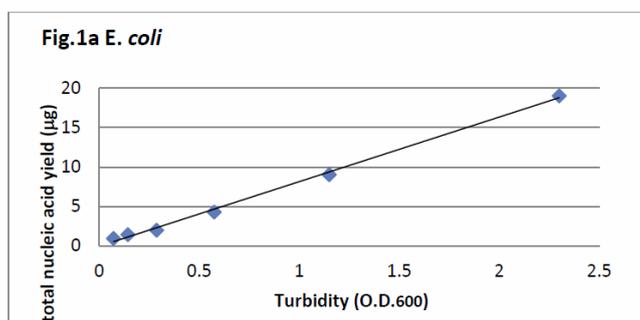
Количество ДНК зависит от типа образца, количества бактерий в образце и использованного для выделения ДНК протокола.

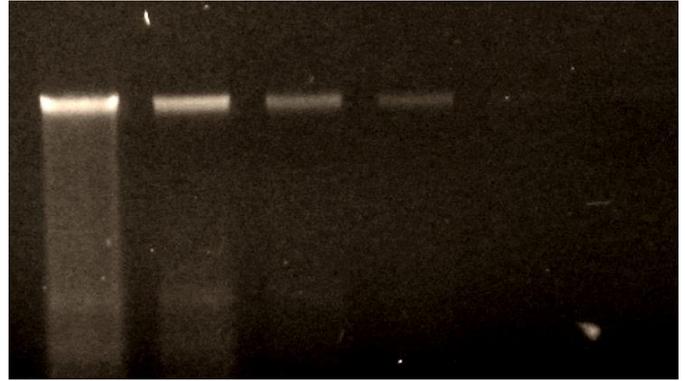
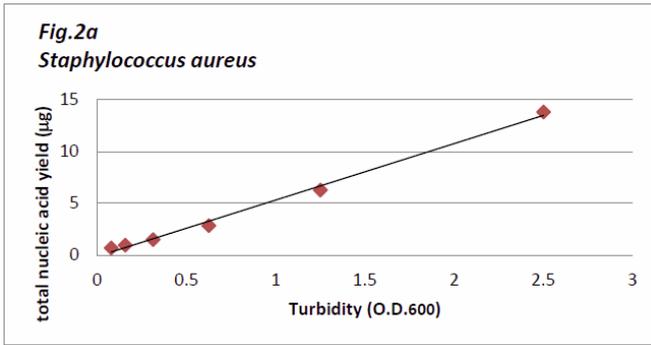
9.10. Результат

9.10.1. Масштабируемость

Использование набора BioMagPure Bacterial DNA Extraction Kit для выделения ДНК из культивированной *Escherichia coli* (ATCC25922) и *Staphylococcus aureus* (ATCC27154) в лизогенном бульоне при различной плотности бактерий (измерение оптической плотности при 600 нм; OD₆₀₀). Взят 200 мкл бактериальной культуры для выделения и собран элюат в 100 мкл. Общее количество полученной ДНК из бактерий разной плотности было измерено при помощи спектрофотометра Nanodrop 2000 UV-Vis (рис. 1а и 2а) и проанализировано с помощью электрофореза в агарозном геле с 1% трис-ацетатным буферным раствором (рис. 1б и 2б). Результаты показывают, что выделенная из грамположительных (*E.coli*) и грамотрицательных (*S. aureus*) бактерий нуклеиновая кислота имеет отличную масштабируемость.

Рис. 16





9.10.2. Чувствительность

Последовательное разведение на *Staphylococcus aureus* (ATCC27154) в диапазоне 10^9 - 10^1 копий/мл). 200 мкл образца были выделены и элюированы в 100 мкл. 25 мкл элюата использовалось для ПЦР SYBR Green в режиме реального времени, которая выявляет специфический ген *Staphylococcus aureus*. Можно выявить не менее 20 копий (около 10^2 копий/мл бактерий в образце) маркированных бактерий (около 5 копий в ПЦР), что подтверждает отличную чувствительность и линейность процедуры изоляции (рис. 3а и 3б).

Рис. 3а

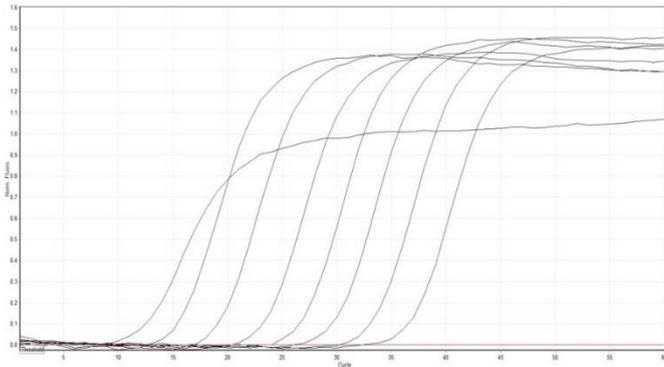
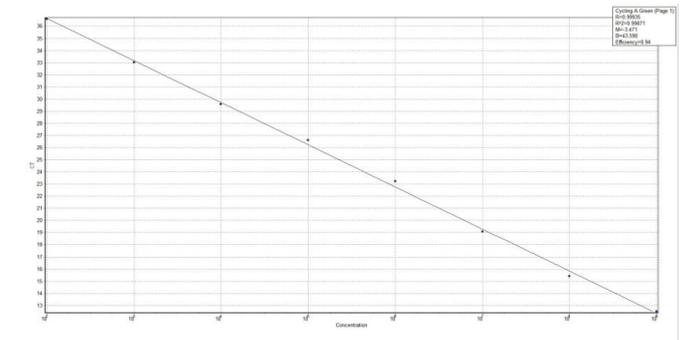


Рис.3б



9.11. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих видов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

9.12. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Bacterial DNA Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

10. Набор BioMagPure для выделения ДНК ВПЧ из мазков

№ по кат. BS-060201-GK

Время обработки: BioMagPure 12S – 45-55 минут

BioMagPure 24 – 45-60 минут

10.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure HPV DNA Extraction Kit for Swab Samples используется для выделения ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) с помощью прибора BioMagPure из образцов клеток шейки матки, которые собираются цервикальной щеточкой или мазком с половых органов в жидкой среде* (например, Hologic Thinprep PreservCyt®, BD Surepath™ и т.д.) или других консервирующих растворах TCO (транспортной среды образца) (например, устройство для сбора образцов из шейки матки QIAGEN DNA PAP, среду для сбора клеток ПЦР Roche Cobas®, раствор для консервирования клеток HybriBio и т.д.).

10.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure HPV DNA Extraction Kit for Swab Samples, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг и т.д.

10.3. Количество тестов

48 выделений

10.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-GK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокальватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Буфер BL4	1 шт. (25 мл)
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

10.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка 1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Раствор протеиназы К	40 мкл
Ячейка-2	Лизирующий буфер 2А	720 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1000 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Элюирующий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-9	Элюирующий буфер 2	1000 мкл
Ячейка-10	Пусто	

* Для сохранения клеток образуют жидкую среду, которая используется в жидких цитологических системах (ЖЦС) для цитологической и молекулярной диагностики.

10.6. Условия хранения

Набор BioMagPure HPV DNA Extraction Kit for Swab Samples необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

До выполнения следующего анализа выделенную нуклеиновую кислоту или аликвотные пробы хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение, до 10 дней) или при температуре -70°C (длительное хранение).

10.7. Исходный материал

Клетки шейки матки собирают цервикальной щеточкой или мазком с половых органов.

В случае нежидкой среды рекомендуется **добавить** в консервант буфер **BL4**.

Образец нужно отправлять на анализ при температуре 4-30°C сразу же после сбора. Условия хранения зависят от раствора для консервирования.

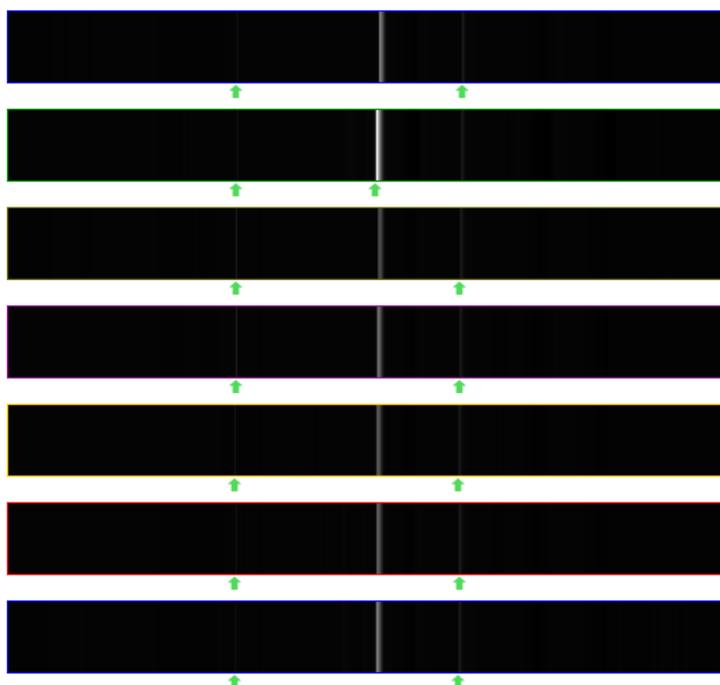
Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль (см. способы контроля/внутренний контроль на странице 54).

10.8. Подготовка образца

Тип образца	Процедура
В жидком растворе для консервирования (например, Hologic Thinprep, PreservCyt®, BD Surepath™)	Возьмите количество образца, которое рекомендуется для анализа*. Центрифугируйте при 1000 x g в течение 5 мин. Удалите надсадочную жидкость. Повторно суспендируйте осадок в 220 мкл буфера BL4. Вортексируйте 5 с. Возьмите 200 мкл суспензии для выделения.
В другом растворе для консервирования ТСО (QUIAGEN DNA PAP, HybriBio раствор для консервирования клеток)	Добавьте равный объем BL4 прямо в раствор консервирования (BL4:консервирование = 1:1)**. Инкубируйте при комнатной температуре 5-10 минут. Вортексируйте 5 с. Возьмите 100-400 мкл образца для выделения

10.9. Результат

Извлечение ДНК из различных клинически положительных образцов ВПЧ. Анализ с использованием ПЦР специально для ВПЧ и капиллярного электрофореза



* Особенно для тех анализов для «усиления сигнала», в которых целевая ДНК не будет амплифицирована. Необходимо взять соответствующее количество образца.

** Образцом из шейки матки обычно является липкая слизь, добавление BL4 перед обработкой поможет с сжижением и выделением нуклеиновой кислоты.

10.10. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих видов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

10.11. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure HPV DNA Extraction Kit for Swab Samples проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

11. Набор BioMagPure TB DNA Extraction Kit

№ по кат. BS-060201-ИК

Время обработки: BioMagPure 12S – 60-70 минут

BioMagPure 24 – 60-75 минут

11.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure TB DNA Extraction Kit используется для выделения геномной ДНК *Mycobacteria* (например, *Mycobacterium tuberculosis*) из различных образцов.

11.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure TB DNA Extraction Kit, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

11.3. Количество тестов

48 выделений

11.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-ИК-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокалыватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Буфер BL3	1 шт. (25 мл)
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

11.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Раствор протеиназы К	40 мкл
Ячейка-2	Лизирующий буфер 3	720 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	720 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1000 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Элюирующий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-9	Элюирующий буфер 2	1000 мкл
Ячейка-10	Буфер N1	400 мкл

11.6. Условия хранения

Набор BioMagPure TB DNA Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

До выполнения следующего анализа выделенную нуклеиновую кислоту или аликвотные пробы хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение, до 10 дней) или при температуре –70°C (длительное хранение).

11.7. Исходный материал

Клинический образец: мокрота, БАЛ, гной, кровь, бесклеточные жидкости и другие образцы из дыхательной системы, моча.

Бактериальная культура в твердой и жидкой среде. Поскольку МТВ является очень инфекционным веществом, подготовьте образец в боксе микробиологической безопасности.

11.8. Подготовка образца

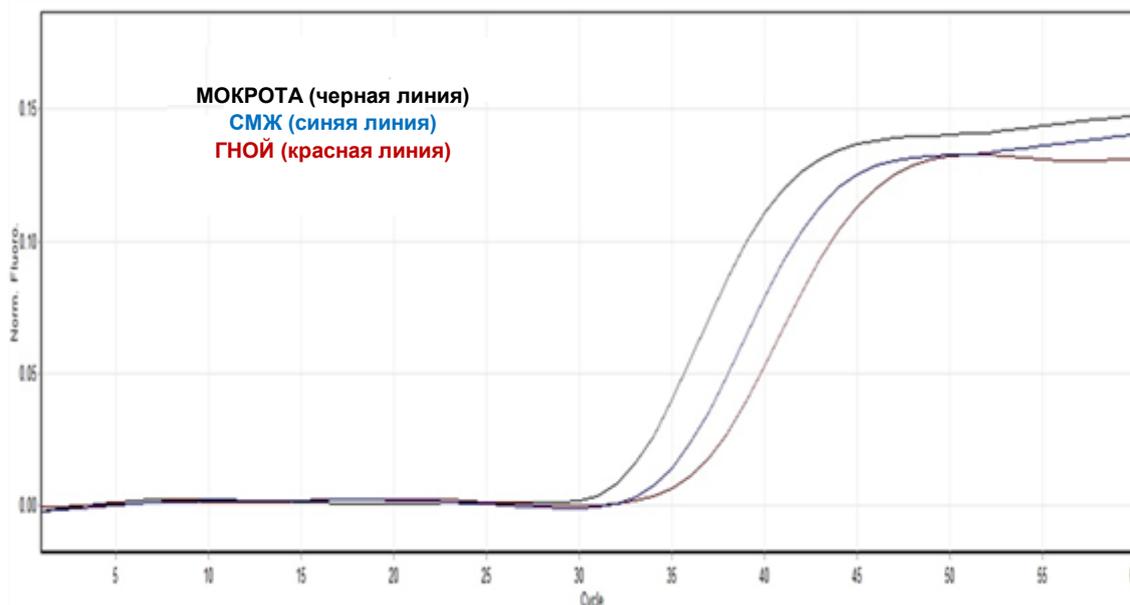
Тип образца	Процедура
Мокрота, БАЛ или другой респираторный образец	<p>Процедура 1-й метод. Превратите образец в жидкость*. Создайте осадок бактерий центрифугированием при 12500 x g в течение 15 мин. Удалите надосадочную жидкость, повторно суспендируйте осадок в 200 мкл буфера BL3, вортексируйте около 5 с. Перенесите 200 мкл образца в пробирку для образца для выделения.</p> <p>2-й метод – без центрифугирования. Превратите образец в жидкость*. Перенесите 200 мкл в пробирку для образца. Добавьте в образец 200 мкл буфера BL3 (1:1)</p>
Вязкая жидкость организма например, гной	Смотрите процедуру «Мокрота, БАЛ или другой респираторный образец»
Бесклеточная жидкость организма например, СМЖ, моча	<p>Создайте осадок центрифугированием при 14000 x g в течение 15 мин. Удалите надосадочную жидкость, повторно суспендируйте бактериальный осадок в 200 мкл буфера BL3, вортексируйте около 5 с. Перенесите 200 мкл образца в пробирку для образца для выделения</p>
Сжиженный, обеззараженный образец	Смотрите процедуру «Бесклеточная жидкость организма»
Кровь или загрязненный кровью образец	<p>Добавьте в образец холодную стерилизованную воду в пропорции вода/кровь 3:1. Смешайте, перевернув несколько раз. Инкубируйте при температуре 4°C не менее 10 мин. Центрифугируйте при 14000 x g в течение 15 мин. Удалите надосадочную жидкость, добавьте 200 мкл буфера BL3, вортексируйте около 5-10 с. Перенесите 200 мкл образца в пробирку для образца для выделения</p>
Колония из твердой культуры	<p>Выберите 1-3 колоний, смешайте с 200 мкл буфера BL3, вортексируйте около 5-10 с. Перенесите 200 мкл образца в пробирку для образца для выделения</p>
Жидкая культура	<p>1-й метод. Возьмите 1 мл культуры (>McFarland 0,5), перенесите в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку. Создайте осадок центрифугированием при 12500 x g в течение 5 мин. Удалите надосадочную жидкость, повторно суспендируйте бактериальный осадок в 200 мкл буфера BL3, вортексируйте около 5-10 с. Перенесите 200 мкл образца в пробирку для образца для выделения.</p> <p>2-й метод – без центрифугирования. Добавьте в жидкую культуру буфер BL3 (1:1). Вортексируйте около 5-10 с. Перенесите смесь образца в пробирку для образца для выделения</p>

11.9.

* Сжижение можно произвести, используя другие сжижающие вещества, например, NALC (N-Ацетил-L-Цистеин)-NaOH и 0,75% ДТТ (5 x раствор), которые могут поглощать материалы слизистой

11.10. Результат

Использование набора BioMagPure TB DNA Extraction Kit для выделения ДНК из клинических образцов (мокрота, СМЖ и гной). Для выделения используется 100 мл образца и собирается 100 мл элюата. Анализ был выполнен в форме количественной ПЦР в режиме реального времени с пробами/праймерами Taqman (IS6110). ДНК туберкулеза можно выявить даже после выделения из бесклеточных жидкостей организма (СМЖ) и загрязненной кровью образца (гноя), что доказывает отличную чувствительность процедуры выделения.



11.11. Ожидаемая чистота и количество

Количество ДНК зависит от типа образца, количества бактерий в образце и использованного для выделения ДНК протокола.

11.12. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих видов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

11.13. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure TB DNA Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

12. Набор BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit

№ по кат. BS-060201-JK

Время обработки: BioMagPure 12S – 35-45 минут

BioMagPure 24 – 35-50 минут

12.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit используется для выделения геномной ДНК из парафиновых срезов фиксированной в формалине ткани. Обеспечивает хорошее качество, высокую целостность ДНК для молекулярной диагностики и научных исследований.

12.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

12.3. Количество тестов

48 выделений

12.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-JK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокалыватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Протеиназа К (10 мг/мл)	1 шт. (1 мл)
Буфер BL2	1 шт. (25 мл)
Колонка для фильтрации	50 шт. (50x1)
Пробирка для сбора	50 шт. (50x1)
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

12.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка 1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Пусто	
Ячейка-2	Лизирующий буфер 3	720 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	720 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1000 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Элюирующий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-9	Элюирующий буфер 2	1000 мкл
Ячейка-10	Пусто	

12.6. Условия хранения

Набор BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

До выполнения следующего анализа выделенную нуклеиновую кислоту или аликвотные пробы хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение, до 10 дней) или при температуре –70°C (длительное хранение).

12.7. Исходный материал

Парафиновые срезы фиксированной в формалине ткани: один-пять срезов толщиной 10 мкм.

Тип образца	Выделяемая нуклеиновая кислота	Объем образца (Количество исходного материала)	Объем элюции
Парафиновые срезы ткани, фиксированные в формалине	ДНК	100-400 мкл / один-восемь срезов толщиной 10 мкм (после поглощения протеиназы К)*	50-300 мкл
Пункционная биопсия		100-400 мкл / три-десять биопсий	

12.8. Количество выделенной ДНК

Количество ДНК зависит от типа образца, количества ядросодержащих клеток в образце и толщины среза.

Требования к подготовке образца могут существенно различаться в зависимости от типа исходного материала. Различия в консистенции и вязкости приводят к необходимости индивидуального подхода при работе с исследуемыми образцами. Ниже приведены рекомендации по обработке первичных образцов.

ДНК из парафиновых срезов фиксированной в формалине ткани часто фрагментирована, что вызывает проблемы при молекулярном анализе. Очень важно сохранять целостность ДНК на протяжении всей процедуры.

Фрагментация ДНК часто приводит к высокому OD260 и пропорции 260/280. Целость ДНК из парафиновых срезов фиксированной в формалине ткани нельзя определить только с помощью спектрофотометрического анализа UV-VIS. **Лучшим методом проверки целостности является ПЦР конститутивных генов с продуктами различной длины.**

12.9. Подготовка образца

Перенос срезов	Перенесите парафиновые срезы фиксированной в формалине ткани в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку. Для большинства типов ткани рекомендуется отрезать от одного до пяти срезов толщиной 10 мкм, в случае пункционной биопсии можно использовать до десяти маленьких срезов
Депарафинизация (по выбору)	Обработайте парафиновые срезы фиксированной в формалине ткани ксилолом или другими средствами для депарафинизации. Этот шаг не является обязательным, выделение можно выполнить и без этого шага
Добавить буфер BL2	Добавьте 400 мкл BL2, убедитесь, что образцы полностью погружены в буфер BL2
Добавить протеиназу К	Добавьте в смесь образца 20 мкл протеиназы К, вортируйте 5-10 с. Кратко осадите центрифугированием, чтобы удалить капли с крышки
Инкубация	Инкубируйте образец при температуре 55°C в течение 2 часов энергичным смешиванием в водяной бане-шейкере или термомиксере. Первые 2 часа являются важным шагом в лизировании протеиназы. Для полной обработки необходимо инкубировать образец шейкером (или вортировать каждые 30 минут). Увеличение времени инкубации при лизировании не очень поможет, так как после 2 часов активность протеиназы падает. Если образец ткани толстый, рекомендуется добавить протеиназу К и инкубировать дольше
Центрифугирование	Кратко центрифугируйте пробирку, чтобы удалить капли внутри крышки
Гомогенизация	Гомогенизируйте образец, несколько раз перелив образец пипеткой. Перенесите образец в колонку для фильтрации, которая расположена в пробирке для сбора (входит в набор). Центрифугируйте при 6000 x g 1 мин. Кусочки нерастворимого материала, которые могут засорить наконечники, влияют на эффективность выделения. Удалите их фильтрованием
Перенос	Перенесите 400 мкл в пробирку для образца

* Размер образца должен быть более 1 x 1 см², если площадь меньше, используйте для выделения более одного среза.

12.10. Результат

12.10.1. Целостность

Для выделения были взяты одиннадцать парафиновых срезов фиксированной в формалине ткани миеломы (10 мкм толщиной, около 2 x 2 см²). Два среза были выделены набором QIAGEN FFPE tissue kit; а остальные набором BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit. Использование ПЦР маркера длины ДНК (мультипраймерной ПЦР продуктов различной длины конститутивных генов) и капиллярного электрофореза для анализа целостности выделенных в ходе ПЦР продуктов (рис. 1).

Рис. 1 Результаты капиллярного электрофореза продемонстрировали довольно хорошую целостность выделенного материала

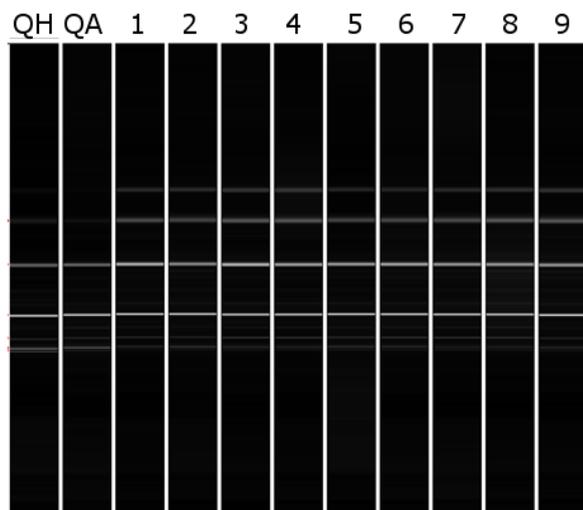
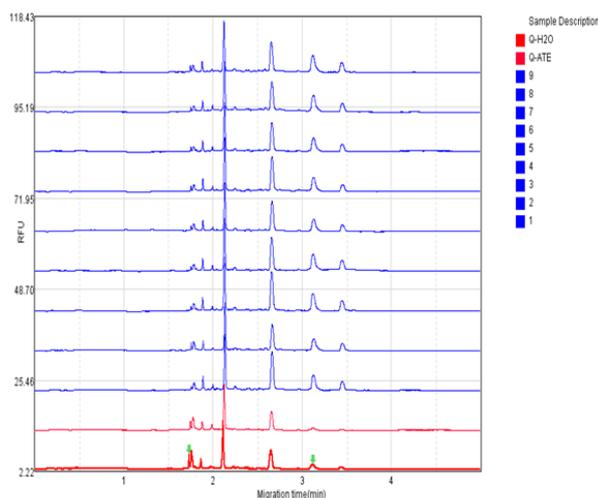


Рис. 1A QH и QA – образцы, выделенные набором BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit QIAGEN FFPE (элюированы в воде и АТЕ), образцы, помеченные цифрами от 1 до 9, – набором BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit



12.10.2. Масштабируемость

Для выделения использовались парафиновые срезы фиксированной в формалине ткани миеломы (10 мкм толщиной, около 2 x 2 см²). Измерение элюата спектрофотометром UV- VIS Nanodrop2000:

Кол-во срезов	Конц. (нг/мкл)	Спектр
1/4 среза	1,5	
1/2 среза	3,8	
1 срез	8,3	
2 среза	15,8	
3 среза	24,7	

12.11. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих видов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

12.12. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure FFPE DNA Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

13. Набор BioMagPure Forensic DNA Extraction Kit

№ по кат. BS-060201-KK

Время обработки: BioMagPure 12S – 40-50 минут

BioMagPure 24 – 40-60 минут

13.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Forensic DNA Extraction Kit используется для выделения и изолирования геномной ДНК из криминалистических образцов.

13.2. Применение

Выделенную ДНК можно использовать в количественном анализе с помощью наборов Quantifiler® Human, Quantifiler® Y Human Male, Quantifiler® Duo DNA Quantification Kits и набора Investigator® Quantiplex, и для использования в амплификации с коротким tandemным повтором с помощью наборов AmpFISTR® PCR Amplification kits

13.3. Количество тестов

48 выделений

13.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-KK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокалыватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Протеиназа К (10 мг/мл)	1 шт. (1 мл)
Буфер BL2	1 шт. (25 мл)
Колонка для фильтрации	50 шт. (50x1)
Пробирка для сбора	50 шт. (50x1)
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

13.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка 1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Пусто	
Ячейка-2	Лизирующий буфер 3	1000 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1000 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Элюирующий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-9	Элюирующий буфер 2	1000 мкл
Ячейка-10	Пусто	

13.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Forensic DNA Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

До выполнения следующего анализа выделенную нуклеиновую кислоту или аликвотные пробы хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение, до 10 дней) или при температуре -70°C (длительное хранение).

13.7. Исходный материал

Цельная кровь, свернувшаяся кровь/высушенная кровь, криминалистические мазки с поверхности и полученные контактным путем, корни волос, слюна, пятна спермы, жевательная резинка, окурки, марки, конверты, ткани и т.д.

13.8. Подготовка образца

Тип образца	Процедура
Цельная кровь (свежая или замороженная)	Для выделения ДНК из образцов цельной крови рекомендуется использовать набор BioMagPure Blood DNA Extraction Kit 200 (BS-060201-AK)
Свернувшаяся кровь / высушенная кровь	Перенесите 20 мкл образца на фильтровальную бумагу или бинт. Дайте образцу крови высохнуть на воздухе Вырежьте кусочек, содержащий кровь, и перенесите образцы в пробирку для образцов Добавьте в образец 400 мкл BL2 и 20 мкл протеиназы К. Инкубируйте при температуре 56°C 15 мин, вортексируйте несколько раз во время инкубирования или поместите образец в термомиксер. Перенесите все образцы в колонку для фильтрации, которая расположена в пробирке для образцов. Кратко осадите при 500 x g 1 мин. Перенесите образец в пробирку для образца для выделения
Криминалистические мазки с поверхности и полученные контактным путем	Дайте мазку или щеточке высохнуть на воздухе в течение не менее 2 часов после сбора. Аккуратно отрежьте или отломайте конец мазка или щеточки и поместите его в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку с помощью соответствующего инструмента (например, ножниц). Добавьте в образец 200 или 400 мкл буфера BL2. Добавьте 20 мкл протеиназы К, смешивайте методом вортексирования в течение не менее 10 с. При обработке образцов со щеточки, коротко центрифугируйте пробирку (10 000 x g, в течение 30 с), чтобы щеточка переместилась на дно пробирки Инкубируйте при температуре 56°C 15 мин. вортексируйте несколько раз во время инкубирования или поместите образец в термомиксер. Перенесите все образцы в колонку для фильтрации, которая расположена в пробирке для образцов Кратко осадите при 500 x g 1 мин. Перенесите образец в пробирку для образца для выделения
Корни волос	Используйте два или три 0,5–1 см образца из корней вырванных волос 1-й метод Перенесите образец волос в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку Добавьте в образец 200 мкл буфера BL2. Добавьте 20 мкл протеиназы К и 10 мкл раствора дитиотреитола 1М (Перед выполнением протокола подготовьте раствор дитиотреитола 1М (1М – около 15% дитиотреитола (м/в))), и тщательно перемешивайте вортексированием в течение не менее 10 с Инкубируйте при температуре 56°C не менее 6 ч, вортексируйте несколько раз во время инкубирования или поместите образец в термомиксер (по выбору) Добавьте еще 10 мкл протеиназы К и 10 мкл дитиотреитола и инкубируйте при температуре 56°C, пока образцы волос полностью не растворятся Осадите пробирку центрифугированием, чтобы удалить капли с крышки изнутри Перенесите все образцы в колонку для фильтрации, которая расположена в пробирке для образцов Кратко осадите при 500 x g 1 мин Перенесите образец в пробирку для образца для выделения 2-й метод Перенесите образец волос в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку Добавьте в образец 200 мкл буфера BL2. Добавьте 20 мкл протеиназы К, тщательно смешивайте методом вортексирования в течение не менее 10 с Инкубируйте при температуре 56°C всю ночь, вортексируйте несколько раз во время инкубирования или поместите образец в термомиксер Осадите пробирку центрифугированием, чтобы удалить капли с крышки изнутри Перенесите все образцы в колонку для фильтрации, которая расположена в пробирке для образцов
Человеческие ткани	Кратко осадите при 500 x g , 1 мин. Перенесите образец в пробирку для образца для выделения. Используйте до 40 мг ткани. Перенесите образец ткани в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку. Добавьте в образец 200 или 400 мкл буфера BL2 и 20 мкл протеиназы К, тщательно перемешивайте вортексирование в течение 10 с.

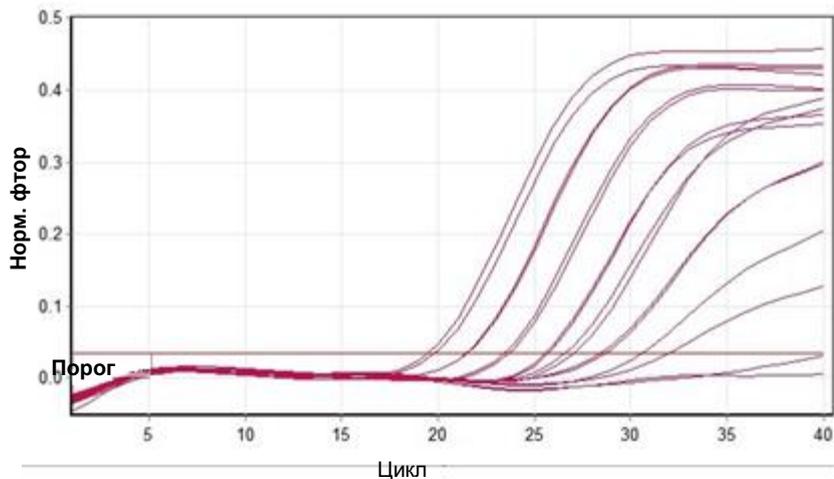
	<p>Инкубируйте при температуре 56°C в течение не менее 2 ч, вортексируйте несколько раз во время инкубирования или поместите образец в термомиксер. Более длительное инкубирование (например, всю ночь) не повлияет на выделение нуклеиновой кислоты</p>
Слюна	<p>Перенесите 50 мкл слюны в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку. Добавьте в образец 200 мкл буфера BL2. Добавьте 20 мкл протеиназы K и тщательно смешивайте методом вортексирования в течение 10 с. Инкубируйте при температуре 56°C 15 мин, вортексируйте несколько раз во время инкубирования или поместите образец в термомиксер. Осадите пробирку центрифугированием, чтобы удалить капли с крышки изнутри. Перенесите 200 мкл в пробирку для образца для выделения.</p>
Пятна спермы	<p>Поместите 5-10 мкл или 1 см² криминалистического образца в 1,5 образца в микроцентрифужную пробирку. Добавьте в образец 200 или 400 мкл буфера BL2. Добавьте 20 мкл протеиназы K и тщательно смешивайте методом вортексирования в течение 10 с. Инкубируйте при температуре 56°C 15 мин, вортексируйте несколько раз во время инкубирования или поместите образец в термомиксер. Осадите пробирку центрифугированием, чтобы удалить капли с крышки изнутри. Перенесите все образцы в колонку для фильтрации, которая расположена в пробирке для образцов. Кратко осадите при 500 x g, 1 мин. Перенесите образец в пробирку для образца для выделения</p>
Жевательная резинка	<p>Рекомендуется использовать до 40 мг жевательной резинки, порезанной на мелкие кусочки Перенесите образец жевательной резинки в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку Добавьте в образец 200 мкл буфера BL2. Добавьте 20 мкл протеиназы K и тщательно смешивайте методом вортексирования в течение 10 с. Инкубируйте при температуре 56°C 15 мин, вортексируйте несколько раз во время инкубирования или поместите образец в термомиксер Коротко осадите пробирку центрифугированием, чтобы удалить капли с крышки изнутри Перенесите 200 мкл образец в пробирку для образца для выделения</p>
Окурки	<p>Рекомендуется использовать бумагу размером 1 см² от конца сигареты или фильтра Перенесите окурочек в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку Добавьте в образец 200 или 400 мкл буфера BL2 (Убедитесь, что образец полностью погружен в буфер BL2, в случае необходимости добавьте еще буфера BL2 в образец) Добавьте 20 мкл протеиназы K и тщательно смешивайте методом вортексирования в течение 10 с Инкубируйте при температуре 56°C 15 мин, вортексируйте несколько раз во время инкубирования или поместите образец в термомиксер Коротко осадите пробирку центрифугированием, чтобы удалить капли с крышки изнутри Перенесите 200 мкл образец в пробирку для образца для выделения</p>
Марки, конверты	<p>Используйте кусок почтовой марки или конверта размером 0,5-2,5 см² Перенесите все кусочки образца в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку Добавьте в образец 200 или 400 мкл буфера BL2 (Убедитесь, что образец полностью погружен в буфер BL2, в случае необходимости добавьте еще буфера BL2 в образец) Добавьте 20 мкл протеиназы K и тщательно смешивайте методом вортексирования в течение 10 с Инкубируйте при температуре 56°C 15 мин, вортексируйте несколько раз во время инкубирования или поместите образец в термомиксер Коротко осадите пробирку центрифугированием, чтобы удалить капли с крышки изнутри Перенесите 200 мкл образец в пробирку для образца для выделения</p>

13.9. Результат

13.9.1. Действие

Для количественного анализа геномной ДНК человека был использован QIAGEN Investigator® Quantiplex. Стандартная кривая (рис. 1А и 1Б) была составлена по стандартам расчета концентрации геномной ДНК. Результаты были показаны в виде Ct (точки пересечения) и рассчитаны с помощью ПЦР в режиме реального времени (Таблица 1).

Рис. 1А



Стандартная кривая

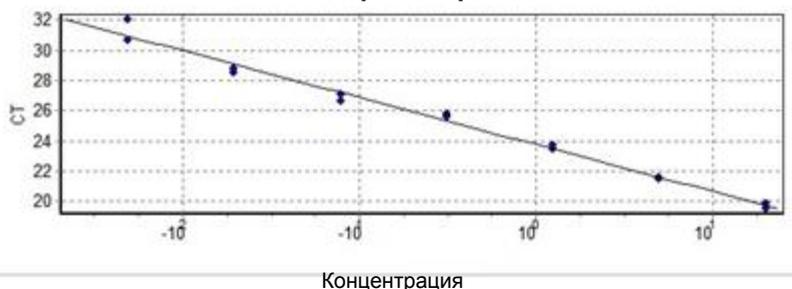


Рис. 1Б

Название	Ct	Данная конц. (мкг/мкл)	Рассч. конц. (мкг/мкл)	Повт. Ct
Контрольная ДНК Z1 20 нг/мкл	19,52	20	23,4924293079773	19,70
Контрольная ДНК Z1 20 нг/мкл	19,89	20	17,743816822679	
Контрольная ДНК Z1 5 нг/мкл	21,53	5	5,28297255153993	21,54
Контрольная ДНК Z1 5 нг/мкл	21,56	5	5,15506510351862	
Контрольная ДНК Z1 1,25 нг/мкл	23,72	1,25	1,03901378233338	23,60
Контрольная ДНК Z1 1,25 нг/мкл	23,48	1,25	1,23756811894785	
Контрольная ДНК Z1 0,3125 нг/мкл	25,76	0,3125	0,228298414974509	25,69
Контрольная ДНК Z1 0,3125 нг/мкл	25,63	0,3125	0,251925125265275	
Контрольная ДНК Z1 0,078125 нг/мкл	26,64	0,078125	0,118599321404503	26,86
Контрольная ДНК Z1 0,078125 нг/мкл	27,08	0,078125	8,58029166440412E-02	
Контрольная ДНК Z1 0,01953125 нг/мкл	28,51	0,01953125	2,97115046127299E-02	28,62
Контрольная ДНК Z1 0,01953125 нг/мкл	28,74	0,01953125	2,50882331404593E-02	
Контрольная ДНК Z1 0,0048828125 нг/мкл	32,02	0,004882813	2,18504909354026E-03	31,33
Контрольная ДНК Z1 0,0048828125 нг/мкл	30,64	0,004882813	6,08706490645644E-03	
NTC				
NTC				

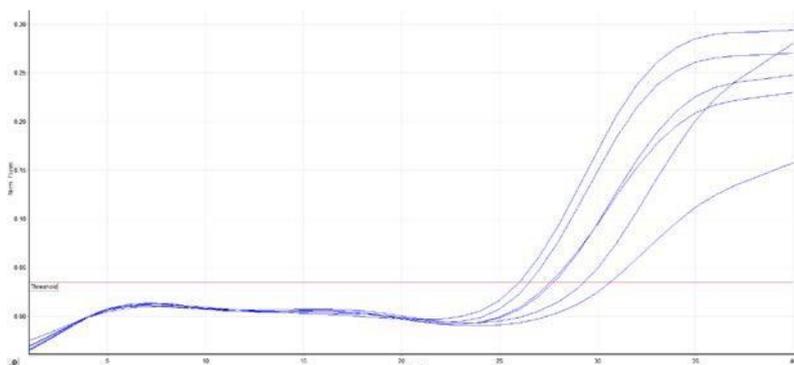
Таблица 1

Тип образца	Результаты анализа прибором Investigator® Quantiplex	
	Ct	Конц. (нг/мкл)
Мазок из ротовой полости	21-25	3-17
Окурки	25-26	1,2-1,6
Мазок с поверхности напитка	27-28	0,4-0,5
Соломинка	30,5-31	0,048
Корень волоса	27-38	0,0005-0,68
Ноготь	27-29	0,2-0,7
Высушенные плоды бетельной пальмы – 10 мг	26-27	0,9-1,2
Высушенное пятно крови – 2 мкл*	29,3-30,6	0,01-0,006
Высушенное пятно крови – 5 мкл*	27,5-27,8	0,051-0,057
Высушенное пятно крови – 10 мкл*	26-26,5	0,12-0,18

13.9.2. Масштабируемость

Измените размер пятна крови, добавив 2, 5 и 10 мл крови на фильтровальной бумаге. Высушенная на воздухе кровь и ДНК, выделенная при помощи набора BioMagPure Forensic DNA Extraction Kit. Результаты были проанализированы с помощью набора Investigator® Quantiplex:

Название	Ct	Рассч. конц. (мкг/мкл)	Повт. Ct
NTC			
NTC			
Пятно крови 2 мкл – 5000 лейкоц.	29,32	1,6148677713519E-02	29,99
Пятно крови 2 мкл – 5000 лейкоц.	30,66	5,90729200049097E-03	
Пятно крови 5 мкл – 5000 лейкоц.	27,62	5,73272999113135E-02	27,70
Пятно крови 5 мкл – 5000 лейкоц.	27,77	5,14260571412719E-02	
Пятно крови 10 мкл – 5000 лейкоц.	26,01	0,191026109793408	26,28
Пятно крови 10 мкл – 5000 лейкоц.	26,55	0,128416666068004	



13.10. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих видов для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

13.11. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Forensic DNA Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

* Использован образец цельной крови, в котором количество лейкоцитов около 5000/мкл

14. Набор BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit A

№ по кат. BS-060201-LK

Время обработки: BioMagPure 12S – 40-50 минут (вирус)

BioMagPure 12S – 45-55 минут (вирус + бактерии)

BioMagPure 24 – 40-55 минут (вирус)

BioMagPure 24 – 45-60 минут (вирус + бактерии)

14.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit используется для выделения ДНК или РНК вирусов и патогенных микроорганизмов из бесклеточных жидкостей, например, сыворотки, плазмы и других бесклеточных жидкостей организма.

14.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit A, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

14.3. Количество тестов

48 выделений

14.4. Компоненты в наборе

Состав набора	Кол-во
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокальватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Нагрузочная РНК (1 мг)	1 шт.
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

14.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Раствор протеиназы К	40 мкл
Ячейка-2	Лизирующий буфер 4	720 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1000 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Очищенная от РНКаз вода	1000 мкл
Ячейка-9	Очищенная от РНКаз вода	1000 мкл
Ячейка-10	Буфер BL2B	400 мкл

14.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

После разведения РНК - носитель хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение до 1 месяца) или -20°C (длительное хранение). Нельзя размораживать и повторно замораживать РНК - носитель более 3 раз.

Хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 24 часов) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

14.7. Исходный материал

Тип образца	Выделяемая нуклеиновая кислота	Объем образца (Количество исходного материала)	Объем элюции
Сыворотка	Общее количество нуклеиновых кислот бактерий/вирусов (ДНК + РНК)	100-400 мкл (вирус) 100-200 (вирус/бактерии)	50-300 мкл
Плазма			
СМЖ			
Предварительно обработанная моча			
Бесклеточные жидкости организма			
Способы контроля/внутренний контроль*	Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль		

Набор предназначен для выделения нуклеиновых кислот вирусов и бактерий из плазмы или сыворотки или других бесклеточных жидкостей организма.

После выделения хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 24 часов) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

14.8. Подготовка образца

Процесс выделения оптимизирован для использования 100-400 мкл сыворотки, плазмы**, СМЖ, предварительно обработанной мочи или других бесклеточных жидкостей организма.

Образцы могут быть свежими или замороженными, при условии, что они не подвергались разморозке и повторной заморозке.

Во время процедуры очистки РНК - носитель выполняет две цели. Во-первых, она улучшает связывание нуклеиновых кислот вируса с кремниевой поверхностью магнитных частиц, в особенности, если образец содержит очень мало целевых молекул. Во-вторых, добавление большого количества РНК -носителя уменьшает шанс деградации РНК в тех редких случаях, когда РНКазы не денатурируют в лизирующем буфере даже в присутствии хаотропной соли и детергента. Отсутствие РНК - носителя в реакции может снизить возможность выделения ДНК или РНК.

После сбора и центрифугирования плазму, сыворотку или СМЖ можно хранить при температуре 2–8°C до 6 часов. При длительном хранении рекомендуется заморозить аликвотные пробы и хранить при температуре -20°C или -80°C. Размораживать пробы необходимо при комнатной температуре (15–25°C), и по достижении ими комнатной температуры незамедлительно начинать процесс выделения. Повторно замораживать аликвотные пробы после разморозки запрещено. Повторная заморозка приводит к денатурации и преципитации белков, что, в свою очередь, приведет к снижению титра вирусов и, следовательно, к снижению выхода нуклеиновых кислот. Если в образцах визуализируется криопреципитат, их необходимо центрифугировать при 6800 x g в течение 3 минут, переместить надосадочную жидкость в чистые пробирки, не захватывая осадок, и сразу же начать процесс.

14.9. Нагрузочная РНК

Добавить 1,0 мл очищенной от РНКазы воды в лиофилизированный РНК - носитель (входит в набор) и смешать методом вортексирования.

Хранить РНК - носитель при температуре 4°C (краткосрочное хранение до 1 месяца) или при температуре -20°C (более длительное время). Нельзя размораживать и повторно замораживать РНК - носитель более 3 раз. Рекомендуется разделить на аликвотные пробы удобного размера.

Перед выделением нуклеиновых кислот в образец рекомендуется добавить РНК - носитель. Добавить в пробирку для образца РНК - носитель 5 мкл (для пробы 100 мкл), 10 мкл (для пробы 200 мкл) или 20 мкл (для пробы 400 мкл).

* См. способы контроля/внутренний контроль на странице 46

** Для подготовки плазмы можно использовать образцы крови, обработанные ЭДТА или цитратом в качестве антикоагулянта

14.10. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих видов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

14.11. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit A проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

15. Набор BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit B

№ по кат. BS-060201-МК

Время обработки: BioMagPure 12S – 45-60 минут

BioMagPure 24 – 45-65 минут

15.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit B используется для выделения ДНК/РНК вирусов и бактерий из мазков (богатых клетками образцов).

15.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit B, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

15.3. Количество тестов

48 выделений

15.4. Компоненты в наборе

Состав набора	Кол-во
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокальватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Нагрузочная РНК (1 мг)	1 шт.
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

15.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка1 Ячейка 2 Ячейка 3Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Раствор протеиназы К	40 мкл
Ячейка-2	Лизирующий буфер 3	720 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	720 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1000 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Элюирующий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-9	Элюирующий буфер 2	1000 мкл
Ячейка-10	Буфер BL2	400 мкл

15.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit В необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

После разведения нагрузочной РНК хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение до 1 месяца) или -20°C (длительное хранение). Нельзя размораживать и повторно замораживать РНК - носитель более 3 раз.

Хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 24 часов) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

15.7. Исходный материал

Бактериальный осадок/колония из культуры, клинические мазки в жидкой транспортной среде, материалы из окружающей среды (воды, почвы и т.д.) и другие богатые клетками образцы.

При использовании в качестве образцов тканей или парафиновых срезов ткани рекомендуется выделять ДНК при помощи набора BioMagPure Tissue DNA Extraction Kit (BS-060201-DK).

Типы и количества исходного материала для использования в процессе выделения ДНК из бактерий с помощью набора BioMagPure Viral/Pathogen Nucleic Acids Extraction Kit В приведены в таблице ниже.

Тип образца	Выделяемая нуклеиновая кислота	Объем образца (Количество исходного материала)	Объем элюции
Бактериальный осадок	Общее количество нуклеиновых кислот вирусов / бактерий (ДНК/РНК)	100-200 мкл / До 10 ⁹ бактерий (около OD ₆₀₀ = 3)	50-300 мкл
Бактериальная колония		100-200 мкл/1-3 колонии	
Мазки		100-200 мкл жидкой транспортной среды	
Способы контроля / дополнительный внутренний контроль*	Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль		

15.8. Подготовка образца

Требования к подготовке образца могут существенно различаться в зависимости от типа исходного материала. Различия в консистенции и вязкости приводят к необходимости индивидуального подхода при работе с исследуемыми материалами.

Ниже приведены рекомендации по обработке первичных образцов перед выделением нуклеиновой кислоты:

Таблица: Подготовка материала образца к выделению нуклеиновой кислоты бактерий

Тип образца	Процедура
Инактивация патогенных организмов	Рекомендуемая предварительная обработка: кипячение Инкубируйте образцы при температуре 95°C в течение 10 мин. Коротко центрифугируйте, чтобы весь объем образца скопился на дне. Дайте образцам остыть и охладите их на льду, затем выполните следующие шаги в зависимости от типа образца
Вязкие образцы например, БАЛ, мокрота или другой слизистый образец	Рекомендуемая предварительная обработка: сжижение Подготовьте свежий стоковый раствор дитиотреитола к сжижению** (например, 5× конц. стокового раствора дитиотреитола составляет 0,75%) Откорректируйте окончательную концентрацию дитиотреитола в образце на 0,15%, добавив стоковый раствор дитиотреитола Инкубируйте образец (например, шейкированием при 850 об./мин в течение 30 мин при температуре 37°C), чтобы его можно было перемещать с помощью пипетки Перенесите 200 мкл в пробирку для образцов (входит в набор)
Для больших жидких образцов, содержащих низкое или неизвестное количество бактерий например, мочи, воды из бассейна/ручья/водопровода	Рекомендуемая предварительная обработка: центрифугирование Центрифугируйте образец в течение 10 мин при 20000 × g, чтобы сконцентрировать бактериальные клетки в осадке Удалите надосадочную жидкость, снова суспендируйте осадок в 220 мкл натрий-фосфатного буфера Перенесите 200 мкл в пробирку для образца (входит в набор)
Мазки например, мазок из глаз, носа, глотки или другие мазки	Соберите образцы и поместите в 1 мл натрий-фосфатного буфера, содержащего общий фунгицид. Инкубируйте в течение 30 мин при комнатной температуре Перенесите 200 мкл в пробирку для образца
Для некоторых видов грамположительных бактерий	Рекомендуемая предварительная обработка: механическая гомогенизация Выполните обычные процедуры гомогенизации в лаборатории.

* См. способы контроля/внутренний контроль на странице 49

** Сжижение можно произвести, используя другие растворы, например, NALC (N-Ацетил-L-Цистеин) -NaOH или другие вещества, которые могут растворять слизистый материал

Особенно для образцов с содержанием частиц например, кал	
Бактериальная суспензионная культура	Перенесите 200 мкл культуры в пробирку для образца
Бактериальная колония	Бактериологической петлей возьмите 1-3 колонии бактерий из посева культуры и энергичным перемешиванием суспендируйте в 220 мкл натрий-фосфатного буфера Перенесите 200 мкл суспензии в пробирку для образца

15.9. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих способов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

15.10. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Viral Nucleic Acid Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам.

16. Набор BioMagPure Viral RNA Extraction kit

№ по кат. BS-060201-NK

Время обработки: BioMagPure 12S – 40-50 минут

BioMagPure 24 – 40-55 минут

16.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Viral RNA Extraction kit используется для выделения вирусной РНК из биологических образцов человека, например, сыворотки, плазмы или других бесклеточных жидкостей.

16.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Viral RNA Extraction kit можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

16.3. Количество тестов

48 выделений

16.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-NK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт. (50x1)
Прокальватель	50 шт. (50x1)
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт. (50x1)
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт. (50x1)
Нагрузочная РНК (1 мг)	1 шт.
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

16.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Раствор протеиназы К	30 мкл
Ячейка-2	Лизирующий буфер 4	720 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1000 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Очищенная от РНКаз вода	1000 мкл
Ячейка-9	Очищенная от РНКаз вода	1000 мкл
Ячейка-10	Пусто	

16.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Viral RNA Extraction kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

После разведения нагрузочной РНК хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение до 1 месяца) или -20°C (длительное хранение). Нельзя размораживать и повторно замораживать РНК - носитель более 3 раз.

Хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 24 часов) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

16.7. Исходный материал

Тип образца	Выделяемая нуклеиновая кислота	Объем образца (Количество исходного материала)	Объем элюции
Сыворотка	Общее количество нуклеиновых кислот вирусов (ДНК + РНК)	100-400 мкл	50-300 мкл
Плазма			
СМЖ			
Предварительно обработанная моча			
Бесклеточные жидкости организма			
Способы контроля / внутренний контроль*	Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль		

Набор предназначен для выделения вирусной РНК из плазмы или сыворотки или других бесклеточных жидкостей организма.

После выделения хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 1 часа) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

16.8. Подготовка образца

Процесс выделения оптимизирован для использования 100-400 мкл сыворотки, плазмы, СМЖ и предварительно обработанных образцов мочи. (Для подготовки плазмы можно использовать образцы крови, обработанные ЭДТА или цитратом в качестве антикоагулянта.)

Образцы могут быть свежими или замороженными, при условии, что они не подвергались разморозке и повторной заморозке.

После сбора и центрифугирования плазму, сыворотку или СМЖ можно хранить при температуре 2–8°C до 6 часов. При длительном хранении рекомендуется заморозить аликвотные пробы и хранить при температуре -20°C или -80°C. Размораживать пробы необходимо при комнатной температуре (15–25°C), и по достижении ими комнатной температуры незамедлительно начинать процесс выделения. Повторно замораживать аликвотные пробы после разморозки запрещено. Повторная заморозка приводит к денатурации и преципитации белков, что, в свою очередь, приведет к снижению титра вирусов и, следовательно, к снижению выхода нуклеиновых кислот вируса. Если в образцах визуализируется криопреципитат, их необходимо центрифугировать при 6800 x g в течение 3 минут, переместить надосадочную жидкость в чистые пробирки, не захватывая осадок, и сразу же начать процесс.

16.9. Нагрузочная РНК

Для получения РНК вируса перед выделением в образец рекомендуется добавить РНК - носитель!

Добавить 1 мл очищенной от РНК воды в пробирку с РНК - носителем и смешать методом вортирования. Хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение до 1 месяца) или -20°C (длительное хранение). Нельзя размораживать и повторно замораживать РНК – носитель более трех раз.

Перед добавлением образца добавить в пробирку для образца РНК - носитель: 5 мкл – для пробы 100 мкл, 10 мкл – для пробы 200 мкл и 20 мкл – для пробы 400 мкл.

16.10. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих способов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

16.11. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Viral RNA Extraction kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

* См. способы контроля/внутренний контроль ниже

17. Набор BioMagPure Plant DNA Extraction Kit

№ по кат. BS-060201-OK

Время обработки: BioMagPure 12S – 45-55 минут

BioMagPure 24 – 45-60 минут

17.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Plant DNA Extraction Kit используется для выделения геномной ДНК из тканей растений (листьев, семян и спор) и грибов. Для выделения можно использовать до 100 мг ткани.

17.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Plant DNA Extraction Kit, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

17.3. Количество тестов

48 выделений

17.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-OK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт.
Прокальватель	50 шт.
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт.
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт.
Колонка для фильтрации	50 шт.
Пробирка для сбора	50 шт.
РНКаза А (10 мг/мл)	1 шт. (0,5 мл)
Буфер PLA (25 мл)	1 шт.
Буфер PLB (25 мл)	1 шт.
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

17.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Пусто	
Ячейка-2	Лизирующий буфер 2	720 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	720 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1000 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Элюирующий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-9	Элюирующий буфер 2	1000 мкл
Ячейка-10	Пусто	

17.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Plant DNA Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

До выполнения следующего анализа выделенную ДНК или аликвотные пробы хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение) или при температуре -70°C (длительное хранение).

17.7. Исходный материал

Если после сбора ткани растений не будут сразу использованы, их необходимо заморозить в жидком азоте. После этого их можно хранить при температуре -80°C . В качестве альтернативы, после сбора ткани можно высушить или лиофилизировать и хранить при комнатной температуре ($15\text{--}25^{\circ}\text{C}$). Для обеспечения качества ДНК образцы необходимо полностью высушить в течение 24 часов после сбора.

По возможности предпочтительно собирать молодые материалы (например, листья, хвою), так как в них содержится больше клеток на единицу веса и в результате можно получить больше ДНК.

Работая с грибами, собирайте мицелий прямо из чашки для культивирования или жидкой культуры. В случае жидкой культуры сначала осадите клетки центрифугированием. Перед дезинтеграции и лизированием полностью удалите надосадочную жидкость. Можно использовать свежий, замороженный, а также лиофилизированный материал грибов.

Для обеспечения максимального количества и качества ДНК может потребоваться оптимизация метода дезинтеграции. Качественная и быстрая дезинтеграция исходного материала важен для обеспечения большого количества ДНК и поможет избежать деградации ДНК.

Перед выделением ДНК материал растений сначала механически разрушается лизирующим буфером (буфером PLA или PLB). После гомогенизации удалите дебрис и другой материал преципитации, пропустив материал через мембранный фильтр. Соберите чистый, отфильтрованный материал и инкубируйте с РНКазой А для удаления РНК.

17.8. Подготовка образца

Для обработки тканей перед выделением рекомендуется использовать гомогенизатор.

Для получения большего количества ДНК перед выделением в образец рекомендуется добавить РНКазу А.

Тип образца	Процедура
Ткань растений	Выполните гомогенизацию, используя соответствующий гомогенизатор Добавьте в образец 440 мкл лизирующего буфера для растений* Энергично вортексируйте Инкубируйте смесь при температуре 65°C в течение 10 мин в термомиксере (настроенном на 1000 об./мин.) или несколько раз вортексируйте во время инкубирования в термоблоке или водяной бане Отфильтруйте лизат через фильтрационную колонну. Кратко осадите при $6000 \times g$, чтобы собрать чистый, отфильтрованный материал Добавьте 10 мкл РНКазы А, хорошо перемешайте, инкубируйте в течение 10 мин. при комнатной температуре Перенесите в пробирку для образца Выполните выделение
Дрожжи	Суспензионная культура Центрифугируйте при $6000 \times g$ 3 мин. Удалите надосадочную жидкость Добавьте 440 мкл лизирующего буфера для растений*, вортексируйте в течение 30 с Инкубируйте смесь при температуре 65°C в течение 10 мин в термомиксере (настроенном на 1000 об./мин) или несколько раз вортексируйте во время инкубирования в термоблоке или водяной бане. Отфильтруйте лизат через фильтрационную колонну. Кратко осадите при $6000 \times g$, чтобы собрать чистый, вышедший из фильтра материал Перенесите 400 мкл в пробирку для образца Выполните выделение Колония культур Бактериологической петлей возьмите 1-3 колонии бактерий из посева культуры и энергичным перемешиванием суспендируйте в 440 мкл лизирующего буфера для растений* Инкубируйте смесь при температуре 65°C в течение 10 мин в термомиксере (настроенном на 1000 об./мин.) или несколько раз вортексируйте во время инкубирования в термоблоке или водяной бане Отфильтруйте лизат через фильтрационную колонну. Кратко осадите при $6000 \times g$, чтобы собрать чистый, вышедший из фильтра материал Перенесите 400 мкл суспензии в пробирку для образца Выполните выделение

* Мы предлагаем два вида лизирующего буфера для растений: PLA и PLB для обработки различных типов ткани. Перед выделением нового типа ткани испытайте оба лизирующих буфера для растений, чтобы подобрать оптимальную процедуру лизирования и получить большее количество ДНК. Если в лизирующем буфере происходит преципитация, перед использованием подогрейте его до 65°C .

17.9. Результат

Растение	Тип ткани	Конц. (нг/мкл)
Соевый боб – 100 мг	Семечко	5-12 (PLA) / 50-80 (PLB)
Рис – 20 мг	Семечко	5-8 (PLA) / 15-25 (PLB)
Arabidopsis – 100 мг	лист	2-5 (PLA) / 5-7 (PLB)
Помидор – 100 мг	лист	20-40 (PLA)
Кукуруза – 100 мг	лист	10-15 (PLA) / 25-60 (PLB)
Tectaria – 100 мг	лист	5-10 (PLA)
Aspidistra – 100 мг	лист	3-6 (PLA)
Pharius – 100 мг	лист	20-25 (PLA) / 50-100 (PLB)
Zingiber – 100 мг	лист	3-8 (PLA) / 20-25 (PLB)

17.10. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих способов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В пробирки с образцами или в круглую лунку реакционной камеры

17.11. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Plant DNA Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

18. Набор BioMagPure Total RNA Extraction Kit

№ по кат. BS-060201-ПК

Время обработки: BioMagPure 12S – 35-45 минут

BioMagPure 24 – 35-50 минут

18.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Total RNA Extraction Kit используется для выделения общей РНК из цельной крови, клеток крови, тканей животных, различных тканей, дрожжей и клеточных культур.

18.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Total RNA Extraction Kit можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР в режиме реального времени, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, Саузерн-блоттинг

18.3. Количество тестов

48 выделений

18.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-ПК-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт.
Прокалыватель	50 шт.
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт.
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт.
0,65 мл пробирка	50 шт.
Буфер RL A (25 мл)	1 шт.
Буфер RL B (25 мл)	1 шт.
Колонка для фильтрации	50 шт.
Пробирка для сбора	50 шт.
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

18.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Раствор протеиназы К	30 мкл
Ячейка-2	Лизирующий буфер 4	720 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	1000 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1000 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1000 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1000 мкл
Ячейка-8	Очищенная от РНКаз вода	1000 мкл
Ячейка-9	Очищенная от РНКаз вода	1000 мкл
Ячейка-10	Пусто	

18.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Total RNA Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

После выделения сразу же хранить РНК при температуре от -60 до -80°C, повторное замораживание запрещено. На следующих этапах анализа используйте РНК на льду.

При получении набора храните RLA и RLB при температуре 4°C.

18.7. Протокол выделения

Название протокола	Объем образца Объем элюции	Описание
Общая РНК	100-400 мкл 50-200 мкл	Извлечение из образца общей РНК и ДНК
Общая РНК (без ДНК)	100-400 мкл 50-200 мкл	Извлечение из образца общей РНК (без ДНК) *

18.8. Перед началом

Перед использованием в буфер RLA и RLB нужно добавить β -меркаптоэтанол (β -МЕ) (хранить при температуре 4°C в течение 4 месяцев).

При использовании протокола без ДНК перед выделением подготовьте ДНКазу. Перенесите 10 мкл ДНКазы в первый продукт элюирования.

Тканям животных, растений и дрожжам перед выделением требуется гомогенизация. При гомогенизации добавьте в образец буферы RL.

Наденьте чистые перчатки, используйте наконечник с фильтром без РНКазы и следите, чтобы рабочая зона, пипет-дозаторы и реагенты не были заражены вирусами, бактериями и нуклеазой.

RNaseZap® является самым удобным способом очистки стендов, оборудования и пипет-дозаторов, который позволяет удалить РНКазные загрязнения из рабочей зоны.

Если образец невозможно обработать в рабочей зоне без РНКазы, лучшим способом защиты РНК является использование для обработки образца стабилизирующего РНК реагента (например, RNAlater).

18.9. Реагенты, поставляемые пользователем

Реагент	Описание	Подготовка
β -меркаптоэтанол (β -МЕ)	β -МЕ уменьшает связи дисульфида, безвозвратно денатурирует РНКазу и уничтожает РНКазу, которая была выделена во время лизиса клеток	Добавьте 10 мкл β -МЕ на 1 мл лизирующих буферов RL**. Его можно хранить при комнатной температуре до одного месяца
Лизирующий буфер эритроцитов	Лизирует эритроциты из цельной крови (процедура лизиса эритроцитов)	10 x лизирующего буфера эритроцитов (100 мл) 8,29 г NH ₄ Cl (1,5M) 1 г KHCO ₃ (100 мм) 0,0372 г Na ₂ EDTA (10 мм) Откорректировать pH 7,2-7,4 отфильтрованным 0,2 мм HCl. Хранить 6 месяцев при температуре 4°C Перед использованием развести 10 раз свежим
ДНКазы	Удалить загрязнение ДНК	Novagen RNase-free DNaseI (69182-3CN)
10 x буфера ДНКазы	Удалить загрязнение ДНК	0,5 M Tris-HCl 25 mM MgCl ₂ 5 mM CaCl ₂

18.10. Исходный материал

18.10.1. Цельная кровь

Использование свежих образцов цельной крови для изолирования. (в течение 4 ч, на льду) Замороженную кровь использовать нельзя. Образец крови должен быть взят в пробирку с антикоагулянтом, желательно ЭДТА, хотя можно использовать и другие антикоагулянты, например, цитрат, гепарин или кислый цитратный раствор на основе декстрозы.

Для получения оптимальных результатов образцы крови необходимо обработать в течение нескольких часов после сбора и хранить при температуре 4°C.

Выполнение процедуры лизиса эритроцитов перед выделением.

Используя образцы цельной крови с очень высоким количеством лейкоцитов (более 10000/мкл) или концентрированных одноядерных клеток периферической крови (ОКПК), рекомендуется снизить входной объем для выделения (общее количество лейкоцитов менее 5 x 10⁶).

18.10.2. Ткань

Для предотвращения деградации внутриклеточной РНКазой важно, чтобы ткани были мгновенно заморожены в жидком азоте, или хранились при температуре -70°C, или были обработаны сразу же после вырезания.

Если образец невозможно сразу заморозить, другим способом защиты РНК является использование для обработки ткани стабилизирующего РНК реагента (например, RNAlater). Замороженные ткани при обработке (например, взвешивании) нельзя размораживать, во время разрезания или гомогенизации буфером RLA рекомендуется держать образец на льду.

После гомогенизации, используя колонку для фильтрации (входит в набор), удаляют нерастворимый и вязкий материал лизатов.

* Для общей РНК (без ДНК) необходимо подготовить ДНКазу (не входит в набор).

** Лизирующие буферы RL – это буферы RLA и RLB. Отмеряйте β -МЕ в вытяжном шкафу и надевайте соответствующую защитную одежду

18.10.3. Клетки

Клетки или изолированные клетки крови можно собирать в виде массы, которая была мгновенно заморожена в жидком азоте, или хранилась при температуре -70°C , или была обработана сразу же. Чтобы повторно суспендировать осадок для выделения, добавьте в образец буфер RLA.

Альтернативно, после распада и гомогенизации образцы можно хранить при температуре -70°C в буфере RLA. Замороженные таким образом образцы будут стабильны в течение многих месяцев.

18.10.4. Ткань растений и дрожжи

До 100 мг образцов сначала опускают в жидкий азот или замораживают, затем в гомогенизатор добавляют лизирующий буфер (буфер RLA или RLB).

Большинство клеток растений используют буфер RLA для распада и денатурирования образца.

Однако некоторые ткани, например, молочный эндосперм кукурузы или мицелий нитевидных грибов, твердеет в буфере RLA, из-за чего выделение РНК становится невозможным. В этих случаях вместо него необходимо использовать буфер RLB.

После добавления лизирующего буфера (RLA или RLB) образцы помещаются в гомогенизатор для гомогенизации.

После гомогенизации, используя колонку для фильтрации (входит в набор), удаляют нерастворимый и вязкий материал лизатов.

Для получения оптимального количества ДНК оптимальной чистоты важно использовать правильное количество исходного материала (согласно таблице ниже). Использование избыточного количества не поможет в выделении общей РНК.

Тип образца	Объем образца (Количество исходного материала)	Объем элюции
Цельная кровь	200-400 мкл* (количество лейкоцитов – около 10^6)	50-200 мкл**
ОКПК	До 50 мкл (суспендированы в 200 мкл с буфером RL)	
Ткань	10-40 мг (лицированы и суспендированы с буфером RL)	
Клеточная культура	200-400 мкл суспензии первичных клеток или клеточной культуры (кол-во клеток $< 5 \times 10^6$)	
Ткань растений	До 100 мг	
Дрожжи	До 100 мг	
Способы контроля / внутренний контроль	Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль	

18.11. Подготовка образца

Образец	Процедура
Цельная кровь	Приготовьте 1 х свежий лизирующий буфер для эритроцитов Добавьте две части ледяного лизирующего буфера для эритроцитов в одну часть образца крови Переверните 3-5 раз, инкубируйте на льду в течение 10-15 мин. Центрифугируйте при $1000 \times g$ в течение 10 мин при температуре 4°C Удалите надосадочную жидкость Повторно суспендируйте осадок в 220 мкл буфера RLA Возьмите 200 мкл для выделения
ОКПК (однойдерные клетки периферической крови)	Повторно суспендируйте ОКПК в 220 мкл буфера RLA Вортексируйте около 10 с Возьмите 200 мкл для выделения
Ткань	Добавьте в ткани 220 мкл буфера RLA; убедитесь, что образец полностью погружен в буфер. Если образец ткани большой, увеличьте выходное количество буфера RLA до 440 мкл Гомогенизируйте ткани при помощи гомогенизатора. Осадите лизат центрифугированием Уберите весь лизат в колонку для фильтрации, которая расположена в пробирке для сбора Центрифугируйте при $1000 \times g$ в течение 5 мин при температуре 4°C Перенесите 200-400 мкл в пробирку для образца Выполните выделение
Клеточная культура	(Протокол 1) Суспензионная культура Соберите клеточную культуру Центрифугируйте при $1000 \times g$ в течение 5 мин при температуре 4°C Полностью удалите надосадочную жидкость Повторно суспендируйте клеточную массу в 220 мкл буфера RLA Вортексируйте около 10 с Возьмите 200 мкл для выделения
	(Протокол 2-1) Культура в монослое Трипсинизируйте клетки

* Для клеток крови необходимо выполнение процедуры лизиса эритроцитов вручную до выделения

* После выделения сразу же хранить РНК при температуре от -60 до -80°C , повторное замораживание запрещено

	<p>Соберите клетки в натрий-фосфатном буфере Центрифугируйте при 300 x g в течение 5 мин при температуре 4°C Удалите надосадочную жидкость Повторно суспендируйте осадок в 220 мкл буфера RLA Вортексируйте 10 с Возьмите 200 мкл для выделения</p>
	<p>(Протокол 2-2) Культура в монослое Соскоблите клетки с помощью 220-440 мкл буфера RLA Вортексируйте 10 с Возьмите 200-400 мкл для выделения</p>
Ткань растений/дрожжи	<p>Добавьте в образец 220-440 мкл буфера RLA или PLB*; убедитесь, что образец полностью погружен в буфер Гомогенизируйте ткани при помощи гомогенизатора. Уберите лизат в колонку для фильтрации, которая расположена в пробирке для сбора Центрифугируйте при 1000 x g в течение 5 мин при температуре 4°C Осадите путем центрифугирования Перенесите 200-400 мкл в пробирку для образца Выполните выделение</p>
Выделение РНК без ДНК	<p>После выделения общей РНК Добавьте 2 мкл DNaseI в элюат Инкубируйте при температуре 37°C в течение 10 мин. Перенесите смесь в новую пробирку для образца Чтобы начать выделение, перейдите к протоколу «Общая РНК»</p>

18.12. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих способов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	В круглую лунку реакционной камеры

18.13. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Total RNA Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

19. Набор BioMagPure Viral Nucleic Acid Large Volume Extraction Kit

№ по кат. BS-060201-QK

Время обработки: BioMagPure 12S – 60-95 минут

BioMagPure 24 – 60-100 минут

19.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure Viral Nucleic Acid Large Volume Extraction Kit используется для выделения ДНК или РНК вируса из биологических образцов человека, например, сыворотки, плазмы или других бесклеточных жидкостей.

19.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure Viral Nucleic Acid Large Volume Extraction Kit, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

19.3. Количество тестов

48 выделений

19.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-QK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт.
Прокалыватель	50 шт.
Пробирка для образцов (2 мл)	50 шт.
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт.
Нагрузочная РНК (1 мг)	2 шт.
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

19.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Раствор протеиназы К	30 мкл
Ячейка-2	Лизирующий буфер 4	1100 мкл
Ячейка-3	Связывающий буфер 1	1600 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Отмывочный буфер 1	1100 мкл
Ячейка-6	Отмывочный буфер 2	1100 мкл
Ячейка-7	Отмывочный буфер 3	1100 мкл
Ячейка-8	Очищенная от РНКаз вода	1000 мкл
Ячейка-9	Очищенная от РНКаз вода	1000 мкл
Ячейка-10	Пусто	

19.6. Условия хранения

Набор BioMagPure Viral Nucleic Acid Large Volume Extraction Kit необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев.

После разведения нагрузочной РНК хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение до 1 месяца) или -20°C (длительное хранение). Нельзя размораживать и повторно замораживать РНК - носитель более 3 раз.

Хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 24 часов) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

19.7. Исходный материал

Тип образца	Выделяемая нуклеиновая кислота	Объем образца (Количество исходного материала)	Объем элюции
Сыворотка	Общее количество нуклеиновых кислот вирусов (ДНК + РНК)	400-1000 мкл	50-300 мкл
Плазма			
СМЖ			
Предварительно обработанная моча			
Бесклеточные жидкости организма			
Способы контроля/внутренний контроль*	Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль		

Набор предназначен для выделения нуклеиновых кислот вирусов (например, ВИЧ, гепатита С, гепатита В и ВПЧ) из плазмы или сыворотки или других бесклеточных жидкостей организма.

После выделения хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 24 часов) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

19.8. Подготовка образца

Процесс выделения оптимизирован для использования 400-1000 мкл сыворотки, плазмы, СМЖ и предварительно обработанных образцов мочи. (Для подготовки плазмы можно использовать образцы крови, обработанные ЭДТА или цитратом в качестве антикоагулянта.)

Образцы могут быть свежими или замороженными, при условии, что они не подвергались разморозке и повторной заморозке.

После сбора и центрифугирования плазму, сыворотку или СМЖ можно хранить при температуре 2–8°C до 6 часов. При длительном хранении рекомендуется заморозить аликвотные пробы и хранить при температуре -20°C или -80°C. Размораживать пробы необходимо при комнатной температуре (15-25°C), и по достижении ими комнатной температуры незамедлительно начинать процесс выделения. Повторно замораживать аликвотные пробы после разморозки запрещено. Повторная заморозка приводит к денатурации и преципитации белков, что, в свою очередь, приведет к снижению титра вирусов и, следовательно, к снижению выхода нуклеиновых кислот вируса. Если в образцах визуализируется криопреципитат, их необходимо центрифугировать при 6800 x g в течение 3 минут, переместить надосадочную жидкость в чистые пробирки, не захватывая осадок, и сразу же начать процесс.

19.9. Нагрузочная РНК

Для получения РНК вируса перед выделением в образец рекомендуется добавить РНК - носитель!

Добавить 1,0 мл очищенной от РНКазы воды в пробирку с РНК - носителем (входит в набор) и смешать методом вортексирования. Хранить при температуре 4°C (краткосрочное хранение до 1 месяца) или -20°C (длительное хранение). Нельзя размораживать и повторно замораживать РНК - носитель более 3 раз. Добавить 20-40 мкл РНК - носителя (для 400-1000 мкл пробы) в пробирку для образца.

19.10. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих способов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	Поместите в пробирку с образцами или в круглую лунку реакционной камеры**

19.11. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Viral Nucleic Acid Large Volume Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

* см. Способы контроля/внутренний контроль ниже

** Используя РНК в качестве внутреннего контроля, ее рекомендуется добавлять в круглую лунку реакционной камеры

20. Набор BioMagPure CFC DNA Extraction Kit LV

№ по кат. BS-060201-RK

Время обработки: BioMagPure 12S – 90-100 минут

BioMagPure 24 – 90-100 минут

20.1. Целевое назначение

Набор BioMagPure CFC DNA Extraction Kit LV обеспечивает быстрое и надежное выделение бесклеточной свободно циркулирующей ДНК (cfc-DNA) из 2,0 мл плазмы / сыворотки используя автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот BioMagPure. Выделение происходит на магнитных частицах используя патентованную технологию разделения магнитных частиц BioMagPure компании Biosan. Набор предназначен для выделения cfc-DNA любых размеров из свежих или замороженных образцов плазмы / сыворотки.

20.2. Применение

Нуклеиновые кислоты, выделенные с помощью набора BioMagPure CFC DNA Extraction Kit LV, можно использовать для дальнейшего анализа: ПЦР, количественная ПЦР, секвенирование (секвенирование нового поколения), биочипирование, рестриктазный анализ длин полиморфизмов, Саузерн-блоттинг

20.3. Количество тестов

48 выделений

20.4. Компоненты в наборе

Состав набора	BS-060201-RK-48
Картридж с реагентами	48 шт. (6x8)
Реакционная камера	48 шт. (6x8)
Штатив для наконечников	48 шт. (6x8)
Наконечник с фильтром	50 шт.
Прокалыватель	50 шт.
Пробирка для образцов (7 мл)	50 шт.
Пробирка для элюатов (1,5 мл)	50 шт.
Маленькие наконечники	50 шт.
Раствор RLA (100 мл)	1 шт.
Протеиназа К	1 шт.
Лист со штрих-кодами	1 шт.
Руководство по выбору	1 шт.

20.5. Содержимое картриджа с реагентами



Ячейка 1 Ячейка 2 Ячейка 3 Ячейка 4 Ячейка 5 Ячейка 6 Ячейка 7 Ячейка 8 Ячейка 9 Ячейка 10

Ячейка-1	Пусто	
Ячейка-2	Отмывочный буфер 1	800 мкл
Ячейка-3	Отмывочный буфер 2	800 мкл
Ячейка-4	Раствор магнитных частиц	800 мкл
Ячейка-5	Связывающий буфер 2	750 мкл
Ячейка-6	Связывающий буфер 2	750 мкл
Ячейка-7	Связывающий буфер 2	750 мкл
Ячейка-8	Связывающий буфер 2	750 мкл
Ячейка-9	Элюирующий буфер 1	800 мкл
Ячейка-10	Пусто	

20.6. Условия хранения

Набор BioMagPure CFC DNA Extraction Kit LV необходимо хранить при комнатной температуре (15-25°C). Не замораживать картриджи с реагентами. В таких условиях наборы стабильны в течение 18 месяцев. Хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 24 часов) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

20.7. Исходный материал

Тип образца	Выделяемая нуклеиновая кислота	Объем образца (Количество исходного материала)	Объем элюции
Сыворотка	CFC DNA	3,75 мл (2,0 мл образца + 1,6 мл буфера RLA + 150 мкл Протеиназы К)	50-100 мкл
Плазма			
Способы контроля / внутренний контроль*	Если последуют другие этапы анализа, добавьте в процедуру выделения способы контроля/внутренний контроль		

Набор предназначен для выделения cfc-DNA из плазмы или сыворотки или пула таких бесклеточных жидкостей организма.

После выделения хранить нуклеиновую кислоту при температуре 4°C (до 24 часов) или при температуре -20°C более длительное время. Повторное замораживание запрещено.

20.8. Подготовка образца

Перенесите 2,0 мл плазмы или сыворотки в 7 мл пробирку для образца

Добавьте в пробирку 150 мкл Протеиназы К

Добавьте в пробирку 1,6 мл буфера RLA

Закройте пробирку и размешайте в течении 30 с на вортексе

Инкубируйте при 56°C 30 мин

Начните процедуру выделения

20.9. Способы контроля/внутренний контроль

Использование соответствующих способов контроля для следующих этапов анализа:

Тип	Описание	Добавление
Положительный контроль	Использование образца, являющегося положительным для мишени	В пробирки с образцами
Отрицательный контроль	Использование образца, являющегося отрицательным для мишени или воды (без контроля матрицы)	В пробирки с образцами
Внутренний контроль (ВК)	Использование количественно определяемого контроля	Поместите в пробирку с образцами или в круглую лунку реакционной камеры*

20.10. Контроль качества

В соответствии с сертифицированной системой управления качеством (ISO) компании Biosan все серии наборов BioMagPure Viral Nucleic Acid Large Volume Extraction Kit проходят проверку на предмет полного соответствия заданным характеристикам качества.

* см. Способы контроля/внутренний контроль ниже

21. Протокол выделения

21.1. Включить с помощью выключателя и подождать, пока включится ЖК-монитор и появится надпись «BioMagPure System Stand-By» (Система BioMagPure в режиме ожидания).

21.2. Нажать кнопку «Start» (Старт). (Система проведет самодиагностику, затем перейдет в рабочий режим.)

Примечание: Система заблокирует основные функции до завершения процесса самодиагностики.

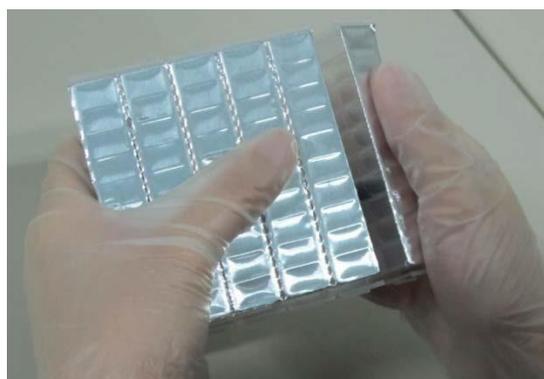
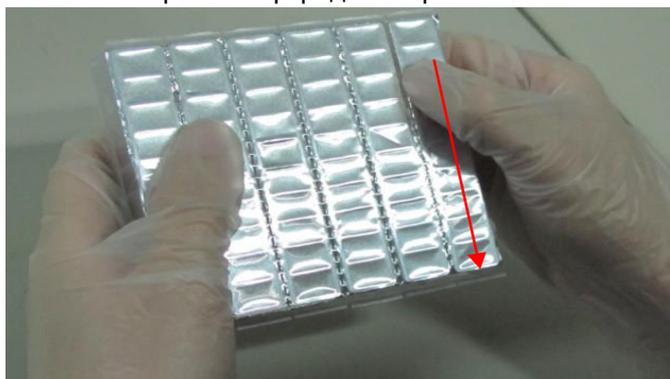
21.3. Открыть раздвижную дверцу и вынуть штатив для образцов из прибора.

21.4. Загрузить картридж с реагентами и все пластиковые расходные материалы (реакционную камеру, штатив для наконечников, прокалыватель, наконечник с фильтром и пестик (входит в некоторые наборы)).



Вставить картриджи.

Вскрытие картриджа с реагентами



Открыть, проведя ногтем по линии перфорации.



Вставить реакционную камеру.



Вставить штатив для наконечников.

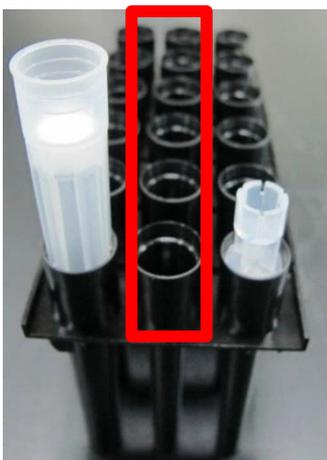


Вставить прокалыватели.



Вставить наконечники с фильтром.

Примечание: Правильное расположение прокалывателя и наконечников с фильтром показано на рисунке. Второй ряд должен быть «ПУСТЫМ».



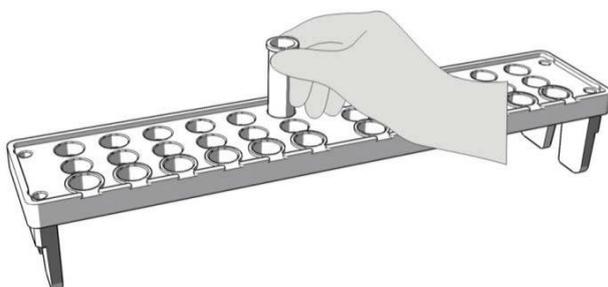
Загрузить картридж с реагентами и один набор пластиковых расходных материалов на образец.

Важно:

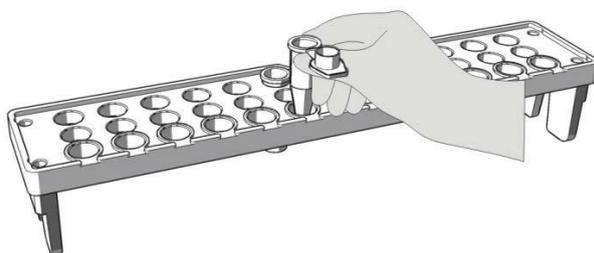
Устанавливать картриджи следует слева направо в порядке возрастания порядкового номера. Убедиться, что картриджи плотно вставлены в блок для картриджей.

В блок можно загрузить от 1 до 12 картриджей в зависимости от количества обрабатываемых образцов.

21.5. Загрузить пробирку для образца и пробирку для элюатов в штатив для образцов на стенде.

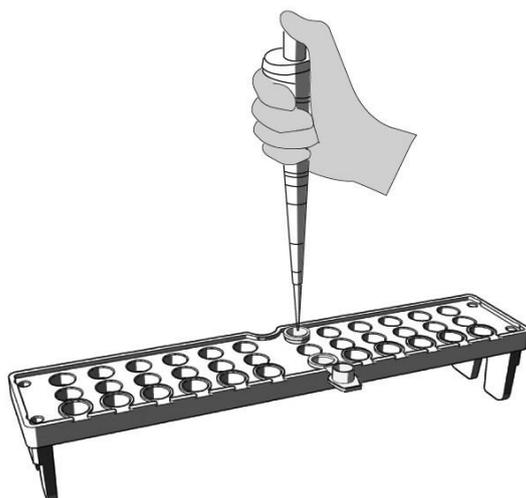


Вставить пробирку для образца в штатив для образцов.



Вставить пробирку для элюатов в штатив для образцов

21.6. Загрузить образец(ы) в пробирку для образца

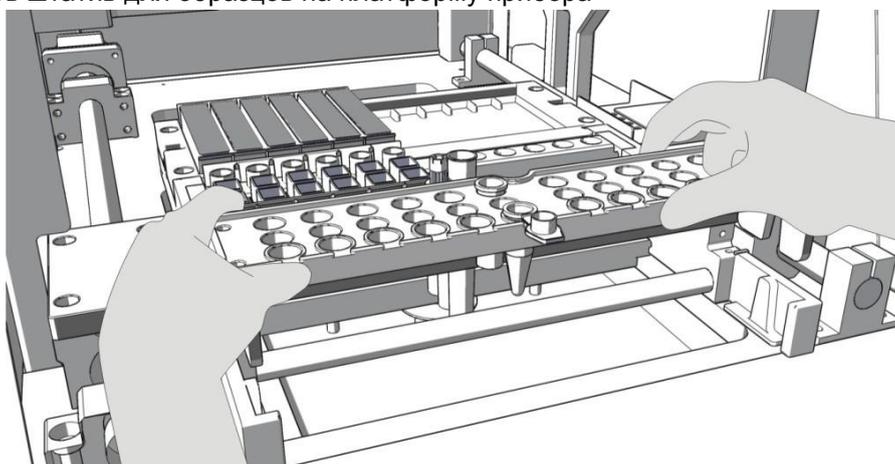


Примечание:

Некоторые типы образцов перед загрузкой нуждаются в предварительной обработке. Подробнее смотрите в руководстве к наборам реагентов.

Убедитесь, что крышки пробирок для элюата открыты, как показано на рисунке выше.

21.7. Поместить штатив для образцов на платформу прибора



Примечание:

Держать поднос с образцами двумя руками.

Убедиться, что поднос с образцами правильно вставлен в прибор.

21.8. Закрыть дверцу.

21.9. Для выбора протокола выделения, объема образца и объема элюата необходимо просканировать штрих-коды.



Примечание:

В набор реагентов входит один лист со штрих-кодами для протокола.

Название протокола, объем образца и объем элюции появится на ЖК-мониторе после сканирования штрих-кода протокола.

- 21.10. Следуя указаниям на ЖК-мониторе, убедиться, что все рабочие шаги были выполнены до запуска программы.
- 21.11. Нажать «Enter» (Ввод) для подтверждения. Прибор автоматически запустит программу протокола и будет выполнять ее до конца процесса.
- Примечание:**
Выделение может занять от 30 до 45 минут в зависимости от типа реагента.
- 21.12. По окончании цикла выделения раздается короткий звуковой сигнал и на ЖК-мониторе появляется надпись «Protocol Completed» (Протокол завершен).
- 21.13. Открыть дверцу прибора.
- 21.14. Вынуть пробирки для элюатов, содержащие раствор с выделенной нуклеиновой кислотой.
- Примечание:**
Хранить выделенные нуклеиновые кислоты при температуре 4°C в случае кратковременного хранения или при температуре -70°C в случае длительного хранения.
- 21.15. Утилизировать использованные картриджи и все пластиковые расходные материалы по правилам утилизации биологически опасных отходов. Не использовать картриджи повторно.
- 21.16. Если прибор не планируется использовать, необходимо поместить штатив для образцов в рабочее пространство, закрыть дверцу прибора и нажать кнопку «Start» (Старт) на 2 секунды, чтобы перевести его в спящий режим. Если прибор не будет использоваться достаточно долго, необходимо отключить его от сети.

Biosan SIA

Ратсупитес 7, к. 2, Рига, LV-1067, Латвия

Тел.: +371 67426137

Факс: +371 67428101

<http://www.biosan.lv>