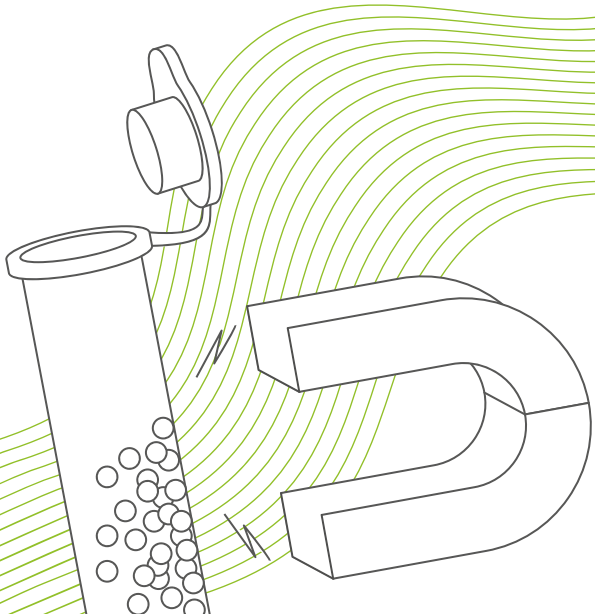
Lumiprobe
Life science solutions



Handbuch für das LumiMag® BB, Magnetischer Perlen-Kit zur Isolierung von DNA aus Blut und Wangenabstrich

Lumiprobe Corporation. All rights reserved.

Contents

Deutsch: Handbuch für das LumiMag® BB, Magnetischer Perlen-Kit zur Isolierung von DNA aus Blut und Wangenabstrich 3-13

DE

Handbuch für das LumiMag® BB, Magnetischer Perlen-Kit zur Isolierung von DNA aus Blut und Wangenabstrich

Das Kit dient der schnellen und hocheffizienten Extraktion genomischer DNA aus Vollblut und Wangenabstrichen mit Hilfe von Magnetpartikeln. Es ist kompatibel mit den Vollautomaten wie KingFisher™ Flex, MagMAX™ Express-96, KingFisher™ Duo Prime, KingFisher™ mL, kann aber auch für die manuelle DNA-Extraktion mit einem Magnetständer verwendet werden.

Die isolierte DNA ist frei von Proteinen und eignet sich u. a. für PCR, Restriktionsverdau, Southern Blot und Sequenzierung (Sanger- und NGS-Verfahren).

Bestandteile

Komponente	Anzahl	
	11753 10 minipreps	31753 100 minipreps
B1315, Magnetic Beads (100 mg/ml), 200 uL	1	—
22850, Proteinase K (lyophilisiert), 10 mg	1	—
B3850, Proteinase-K-Verdünnungspuffer / Proteinase K Dilution Buffer, 600 uL	1	—
F4150, Lyselösung BB / Lysis Solution BB, 4 mL	2	—
G6450, Waschlösung MAG A / Wash Solution MAG A (with GuHCl), 5 mL	1	—
D1315, Magnetic Beads (100 mg/ml), 2 mL	—	1
62850, Proteinase K (lyophilisiert), 100 mg	—	1
D3850, Proteinase-K-Verdünnungspuffer / Proteinase K Dilution Buffer, 1200 uL	—	1

P4150, Lyselösung BB / Lysis Solution BB, 35 mL	—	2
S6450, Waschlösung MAG A / Wash Solution MAG A (with GuHCl), 50 mL	—	1
K2250, Waschlösung B / Wash Solution B (Konzentrat muss mit 96%igem Ethanol 5-fach verdünnt werden), 10.0 mL	1	1
K1350, Elutionspuffer / Elution Buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.5), 10 mL	1	1

Transport und Lagerung bei Raumtemperatur.

Haltbarkeit: 12 Monate.

Benötigte, aber nicht mitgelieferte Geräte und Materialien:

- Ein Vollautomat (KingFisher™ Flex, MagMAX™ Express-96, KingFisher™ Duo Prime, KingFisher™ mL) / Magnetständer
- Bei Verwendung eines Magnetständers: 1,5 ml-Eppendorfgefäße (jeweils 2 Gefäße für die DNA-Extraktion aus 1 Probe)
- 96%iger Ethanol
- PBS-Puffer für die DNA-Extraktion aus Wangenabstrichen
- (optional) ein Mikrotiterplatten-Schüttler
- Zugehörige Plastikwaren für einen Vollautomaten:

KingFisher™ Flex Purification System oder MagMAX™ Express-96 Deep Well Magnetic Particle Processor	
95040460	96-Deep-Well-Platte Microtiter DW
97002540	KingFisher 96 KF Mikrotiterplatte 200 µl
97002534	KingFisher 96 Spitzenkämme für 96 Magnete DW-Format
	Adhäsionsfolie für die Versiegelung von Mikrotiterplatten

KingFisher™ Duo Prime	
97003530	Combi-Pack für KingFisher Duo für Microtiter Deep-Well-Mikrotiterplatte (enthält Mikrotiterplatten, Spitzenkämme und Elutionsstreifen)
oder	
97003520	Elutionsstreifen für KingFisher Duo
97003500	Spitzenkämme (12-Kanal) für 96-Deep-Well-Mikrotiterplatte Microtiter
95040460	96-Deep-Well-Platte Microtiter DW

KingFisher™ mL	
97002141	KingFisher mL Combi 240 (enthält Elutionsstreifen und Spitzenkämme)
oder	
97002111	Spitzenkämme KingFisher mL
97002121	Elutionsstreifen KingFisher mL

Vorbereitung der Reagenzien

1. *Wash Solution B* wird als Konzentrat geliefert und muss vor der ersten Verwendung 1:5 mit 96%igem Ethanol verdünnt werden. Dazu versetzen Sie das auf der Flasche angegebene Volumen des Konzentrats mit dem 4-fachen Volumen an 96%igem Ethanol und notieren Sie die Zugabe auf dem Deckel.
2. Geben Sie 1ml *Proteinase K Dilution Buffer* in das Röhrchen mit der lyophilisierten *Proteinase K*, mischen Sie gut und zentrifugieren Sie das Röhrchen kurz an.

   ! Lagern Sie die Proteinase K nach dem Auflösen bei -20 °C.
3. Sollten sich in der *Lyselösung BB* und/oder in der *Waschlösung MAG A* Salzkristalle gebildet haben, erwärmen Sie die Lösungen auf maximal 50 °C, bis sich der Niederschlag vollständig aufgelöst hat.
4. Wenn Sie einen Mikrotiterplatten-Schüttler verwenden, bestimmen Sie zuerst optimale Bedingungen für das effektive Mischen:

- Vergewissern Sie sich, dass die Mikrotiterplatte genau in den Schüttler passt.
- Pipettieren Sie 1 ml Wasser in die Wells der Mikrotiterplatte und decken Sie sie mit der Folie ab. Finden Sie die maximale Schüttelgeschwindigkeit, bei der kein Wasser aus den Wells auf die Folie schwappt.

Vorbereitung der Proben

Wangenabstrich:

1. Geben Sie 1,5 ml PBS in ein sauberes Röhrchen.
2. Spülen Sie den Tupfer mit dem Wangenabstrich mit PBS gut aus. Schneiden Sie den Schaft ab und verschließen Sie das Röhrchen.
3. Vortexen Sie das Röhrchen für 2-3 Minuten.
4. Entnehmen Sie 200 µl Überstand als Probe.

Vollblut: Schwenken Sie das Röhrchen mit Blut gut und entnehmen Sie 200 µl als Probe.

Vollautomatische DNA-Extraktion mit KingFisher™ Flex, MagMAX™ Express-96

1. Bereiten Sie die Mikrotiterplatten für eine vollautomatische Probenbearbeitung anhand der Tabelle vor.

   ! Versiegeln Sie die vorbereiteten Mikrotiterplatten mit Adhäsionsfolie, um mögliche Kontamination und Verdunstung der Lösungen zu vermeiden.

Mikrotiterplatten-ID	Position im Gerät	Mikrotiterplatte	Reagenz	Volumen pro Well
Wash Plate 1	2	DW	Waschlösung MAG A	500 µl
Wash Plate 2	3	DW	Waschlösung B	500 µl
Elution	4	Standard	Elutionspuffer	90 µl
Tip Comb	5	Standard	Platzieren Sie den Spitzenkamm in der Mikrotiterplatte	

2. Resuspendieren Sie die Magnetbead-Suspension gut durch Vortexen.
3. Stellen Sie in einem separaten Röhrchen die *Magnetbead-Suspension* mit der *Proteinase K-Lösung* wie folgt her: 30 µl Suspension pro Probe = 20 µl *Magnetbead-Suspension* + 10 µl *Proteinase K-Lösung*.
4. Mischen Sie die *Magnetbead-Suspension* und *Proteinase K-Lösung* gründlich. Pipettieren Sie 30 µl der Suspension in die Wells der Deep-Well-Mikrotiterplatte.
5. Fügen Sie 200 µl Vollblut/Wangenabstrich (s. Abschnitt «Vorbereitung der Proben») zu der Suspension aus *Magnetbeads* und *Proteinase K*.
6. Mischen Sie gründlich den Inhalt der Wells:
   - 2 Minuten auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler bei maximaler Geschwindigkeit (bestimmen Sie zunächst die maximale Geschwindigkeit wie im Abschnitt «Vorbereitung der Reagenzien» beschrieben),
     oder
   - durch Pipettieren, danach inkubieren Sie für 2 Minuten bei Raumtemperatur.

7. Fügen Sie in die Wells 700 µl der *Lyselösung BB* hinzu.
8. Beginnen Sie mit der vollautomatischen Probenbearbeitung am Gerät. Wählen und starten Sie das entsprechende Programm am Gerät.

   Benutzen Sie das Programm MagMAX_CORE:

Gerät	Programm mit Aufheizen	Programm ohne Aufheizen (optional)
KingFisher™ Flex	MagMAX_CORE_Flex.bdz	MagMAX_CORE_Flex_no_heat.bdz
KingFisher™ 96 MagMAX™ Express-96	MagMAX_CORE_KF-96.bdz	MagMAX_CORE_KF-96_no_heat.bdz

9. Folgen Sie den Anweisungen des Geräts und stellen Sie die vorbereiteten Mikrotiterplatten mit Lösungen (P. 1) und Proben (P. 7) ins Gerät.

Lagerung der isolierten DNA: im Gefrierfach (-20 °C), kurzfristig bei 4 °C

Vollautomatische DNA-Extraktion mit KingFisher™ Duo Prime, KingFisher™ mL

1. Resuspendieren Sie die *Magnetbead-Suspension* gut durch Vortexen.
2. Stellen Sie in einem separaten Röhrchen die *Magnetbead-Suspension* mit der *Proteinase K-Lösung* wie folgt her: 30 µl Suspension pro Probe = 20 µl *Magnetbead-Suspension* + 10 µl *Proteinase K-Lösung*.
3. Mischen Sie die *Magnetbead-Suspension* und *Proteinase K-Lösung* gründlich. Pipettieren Sie 30 µl der Suspension in die Wells der Mikrotiterplatte/des Streifens.
4. Fügen Sie 200 µl Vollblut/Wangenabstrich (s. Abschnitt «Vorbereitung der Proben») zu die *Magnetbead-Suspension* und *Proteinase K*.
5. Mischen Sie den Inhalt der Wells/des Streifens gründlich:
   - 2 Minuten auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler bei maximaler Geschwindigkeit (bestimmen Sie zunächst die maximale Geschwindigkeit wie im Abschnitt «Vorbereitung der Reagenzien» beschrieben),
     oder
   - bei Verwendung von Elutionsstreifen für KingFisher™ mL: durch Pipettieren, danach inkubieren Sie für 2 Minuten bei Raumtemperatur.
6. Fügen Sie in die Wells 700 µl der *Lyselösung BB* hinzu.
7. Pipettieren Sie *Waschlösung MAG A*, *Waschlösung B*, *Elutionspuffer* und Proben in die entsprechenden Wells der Mikrotiterplatte/des Streifens wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben.

   Laden Sie die Spitzenkämme und die laut Tabelle vorbereiteten Mikrotiterplatten/Streifen gleichzeitig ins Gerät.

KingFisher™ Duo Prime				
Reihen-ID	Reihe der Mikrotiterplatte	Mikrotiterplatte	Reagenz	Volumen pro Well

Sample	A	DW	Probe (wie im Punkt 6 erhalten)	930 µl
Wash 1	B		Waschlösung MAG A	500 µl
Wash 2	C		Waschlösung B	500 µl
Elution	Einzelner Streifen	Elutionsstreifen	Elutionspuffer	90 µl
Tip Comb	H	DW	Platzieren Sie den Spitzenkamm in der Mikrotiterplatte	

KingFisher™ mL				
Position-ID	Stripposition im Gerät	Well	Reagenz	Volumen pro Well
Sample	1	Standard	Probe (wie im Punkt 6 erhalten)	930 µl
Wash 1	2		Waschlösung MAG A	500 µl
Wash 2	3		Waschlösung B	500 µl
Elution	4		Elutionspuffer	90 µl
Tip Comb	—	—	Platzieren Sie den Spitzenkamm im Halter	

8. Beginnen Sie mit der vollautomatischen Probenbearbeitung am Gerät. Wählen und starten Sie das entsprechende Programm am Gerät.

Benutzen Sie das Programm MagMAX_CORE:

Gerät	Programm mit Aufheizen	Programm ohne Aufheizen
KingFisher™ Duo Prime	MagMAX_CORE_DUO.bdz	MagMAX_CORE_DUO_no_heat.bdz
KingFisher™ mL	—	MagMAX_CORE_mL_no_heat.bdz

Lagerung der isolierten DNA: im Gefrierfach (-20 °C), kurzfristig bei 4 °C

Manuelle DNA-Extraktion mit einem Magnetständer

1. Resuspendieren Sie die *Magnetbead-Suspension* gut durch Vortexen.
2. Stellen Sie in einem separaten Röhrchen die *Magnetbead-Suspension* mit der *Proteinase K-Lösung* wie folgt her: 30 µl Suspension pro Probe = 20 µl *Magnetbead-Suspension* + 10 µl *Proteinase K-Lösung*.
3. Mischen Sie die *Magnetbead-Suspension* und *Proteinase K-Lösung* gründlich. Überführen Sie jeweils 30 µl der Suspension in separate Röhrchen, die mit dem Magnetständer kompatibel sind.
4. Fügen Sie 200 µl Vollblut/Wangenabstrich (s. Abschnitt «Vorbereitung der Proben») zu der Suspension aus Magnetbeads und Proteinase K.
5. Vortexen Sie den Röhrcheninhalt gut. Inkubieren Sie 2 Minuten bei Raumtemperatur.
6. Fügen Sie in jedes Röhrchen 700 µl der *Lyselösung BB* hinzu. Vortexen Sie gut.
7. Stellen Sie die Röhrchen in den Magnetständer. Warten Sie, bis die Magnetpartikel sich vollständig absgesetzt haben. Entfernen Sie den Überstand (z. B. mit einer Pipette).
8. Geben Sie 500 µl der *Waschlösung MAG A* hinzu und mischen Sie gut durch Vortexen oder Pipettieren. Stellen Sie die Röhrchen in den Magnetständer.
9. Geben Sie 500 µl der *Waschlösung B* hinzu und mischen Sie gut durch Vortexen oder Pipettieren. Stellen Sie die Röhrchen in den Magnetständer, und entfernen

Sie den Überstand nach vollständigem Absetzen von Magnetpartikeln.

10. Fügen Sie 90 µl des *Elutionspuffers* hinzu und mischen Sie gut durch Vortexen oder Pipettieren. Inkubieren Sie 5 Minuten bei Raumtemperatur. Stellen Sie die Röhrchen in den Magnetständer, nach vollständigem Absetzen von Magnetpartikeln befindet sich die genomische DNA im Überstand. Überführen Sie den Überstand in ein sauberes Röhrchen.

Lagerung der isolierten DNA: im Gefrierfach (-20 °C), kurzfristig bei 4 °C

Ver. MJ3PG
#5555M

22.09.509-QM
Issued by INSPECT

www.lumiprobe.com