

MagPurix Blood DNA Extraction Kit 200

Kat. č. ZP02001-48

Doba zpracování: 50-60 minut pro MagPurix 12S

50-70 minut pro MagPurix 24

Použití Souprava MagPurix Blood DNA Extraction Kit 200 je určena pro izolátor MagPurix, pro extrakci DNA z 10-400µl plné krve savců, suspenze savčích krevních buněk

Aplikace Nukleové kyseliny extrahované pomocí soupravy MagPurix Blood DNA Extraction lze použít v řadě následných aplikací včetně: PCR, qPCR, Sekvenování (NGS), Microarray, RFLP, Southern Blot Analýza

Počet testů 48 extrakcí

Složky soupravy

Složky soupravy	ZP02001-48
Reagenční kazeta	48 ks (6x8)
Reakční komora	48 ks (6x8)
Držák hrotu	48 ks (6x8)
Špička s filtrem	50 ks (50x1)
Prorážecí hrot	50 ks (50x1)
Zkumavka na vzorky	50 ks (50x1)
Eluční zkumavka	50 ks (50x1)
Čárové kódy programu	1 ks
Průvodce	1 ks

Obsah reakční kazety



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

jamka 1	Roztok proteinázy K	40 μ l
jamka 2	Lyzační pufr 2	1000 μ l
jamka 3	Vazebný pufr 1	600 μ l
jamka 4	Roztok magnetických partikulí	800 μ l
jamka 5	Promývací pufr 1	1000 μ l
jamka 6	Promývací pufr A	1000 μ l
jamka 7	Promývací pufr B	1000 μ l
jamka 8	Eluční puft 1	1000 μ l
jamka 9	Eluční pufr 2	1000 μ l
jamka 10	prázdná	

Skladování

Souprava MagPurix Blood DNA Extraction Kit 200 by měla být skladována při pokojové teplotě (15-25° C). Kazety s reagensy nikdy nezamrazujte. Za těchto podmínek jsou soupravy stabilní po dobu 18 měsíců.

Izolované purifikované nukleové kyseliny skladujte před provedením následné analýzy při 4°C (krátkodobě, méně než 10 dní) nebo ji rozdělte na části a uchovávejte při -70 ° C (dlouhodobě).

Startovací materiál

Typ vzorku	Savčí plná krev, Buffy coat, koncentrát leukocytů *
Cílová nukleová kyselina	Celková DNA (genomová DNA, mitochondriální a / nebo virová DNA) **
Objem vzorku	100-400 µl plné krve (počet bílých krvinek méně než 2×10^4 buněk/µl); 100-400 µl koncentrátu leukocytů (neobsahují více než 5×10^6 buněk); 100-400µl buffy coat ** POZNÁMKA: * Pro ty vzorky, které mají nízký počet leukocytů (méně než 1×10^3 buněk / µl), zahustěte krevní buňky centrifugací při 3000 ot./min 15 min. 4°C aby koncentrace leukocytů pro DNA izolaci dosáhla doporučené hodnoty ** Pokud je počet bílých krvinek ve vzorku krve vyšší než 2×10^4 buněk/µl použijte soupravu MagPurix Blood DNA Extraction Kit 1200 nebo naředěte krevní vzorek PBS (např. plná krev pacienta s lymfomem/myelomem nebo jiný vzorek krve/buffy coat bohatý na granulocyty)
Kontroly / Volitelná interní kontrola[#]	Přidejte kontroly / interní kontroly do extrakční procedury, pokud je vyžaduje následná analýza (# viz Kontroly / interní kontroly na stránce 14)
Eluční objem	50-300 µl

- Pokud je objem vzorku menší, přidejte odpovídající objem PBS
- Souprava MagPurix Blood DNA Extraction Kit 200 je určena pro extrakci DNA z čerstvé nebo zmrazené krve odebrané ve zkumavkách obsahujících běžné antikoagulační látky, jako je EDTA, heparin * a citrát (* EDTA se doporučuje používat jako antikoagulační činidlo, zatímco heparin má inhibiční účinky na reakci amplifikace nukleové kyseliny).
- Je doporučeno použití čerstvého vzorku plné krve (do 1 týdne, uloženo při 4-8 °C) pro extrakci, neboť výtěžnost a kvalita nukleových kyselin s časem klesá. Pro delší dobu skladování by měla být celá krev zmrazená a vyhnout se cyklům rozmrazování.
- Tento protokol byl vytvořen pro izolaci DNA z plné krve zdravého jedince, zatímco vzorky z nezdravých nebo léčených jedinců (např. pacienti s leukemií nebo infekčním onemocněním) mohou vykazovat abnormální kvalitu krve, která následně může ovlivnit extrakci nukleové kyseliny.
- Pro izolaci NK z koncentrovaného buffy coat (čištěného a bez krevních buněk), je doporučen MagPurix Culture Cell DNA kit (ZP02005)

- Pokud je celý vzorek krve bohatý na granulocyty (počet bílých krvinek je vyšší než 2×10^4 buněk / μ l), zředte vzorek krve nebo extrahujte DNA pomocí MagPurix blood DNA 1200 soupravy (ZP02002).
- Skladování nukleových kyselin: Pro krátkodobé skladování (až do 10 dní) uložte zkumavky na 2-8°C. Nicméně pro aplikace vyžadující maximální velikost fragmentů, (například southern blotting), uskladněte purifikovanou DNA při teplotě 2-8 ° C maximálně 3 dny, neboť při delším skladování dochází k degradaci DNA. V případě nutnosti dlouhodobého skladování uložte zkumavky při -70°C.
- Ve skutečnosti obsahuje extrahovaný produkt celkové nukleové kyseliny (DNA a RNA), přičemž RNA není hlavním produktem této soupravy (asi 10%) a brzy je degradována. Pokud je požadován produkt bez RNA je nutné přidat k eluátu RNázu.

Výsledek

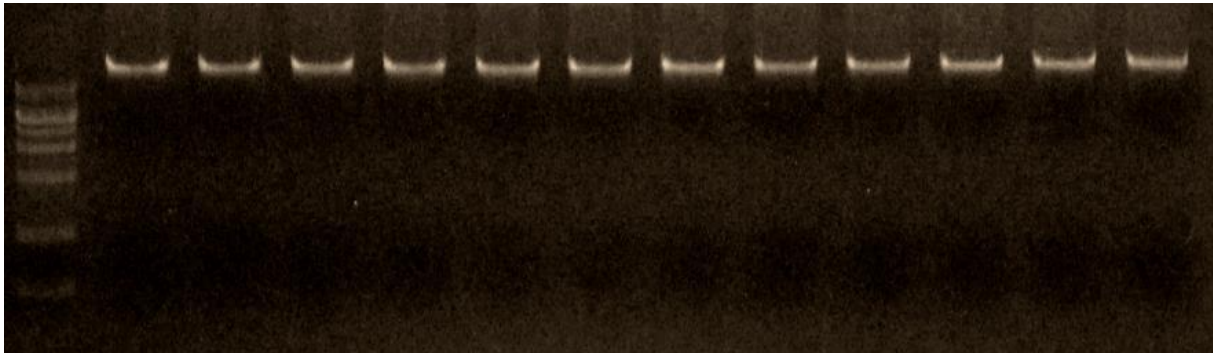
(1) Očekávaná čistota a výtěžek

DNA byla izolovaná pomocí extrakční sady MagPurix Blood DNA 200 a izolátoru MagPurix s použitím pěti různých vzorků lidské plné krve (zkumavka s EDTA-K2). Koncentrace DNA byla měřena s použitím NanoDrop® 2000 spektrofotometru. Rozsah výtěžku DNA je 2-18 μ g pro MagPurix Blood Extraction Kit 200 (z krevního vzorku bílých krvinek: 2-20 $\times 10^3$ buněk/ μ l). Výtěžek DNA z plné krve závisel na konkrétním dárci krve a počtu krevních buněk. Výtěžek z kultivované buněčné kultury závisel na typu buněčné linie v důsledku variabilního stupně aneuploidie.

Vzorek	Objem	Výtěžek DNA	Čistota
Plná krev (bílé krvinky $1,8 \times 10^3$ /ml)	100 μ l	1-1,2 μ g	OD260/OD280 $\geq 1,8$ OD260/OD230 $\geq 1,5$
	200 μ l	2-2,1 μ g	
	300 μ l	2,8 -3,1 μ g	
	400 μ l	4-4,3 μ g	
Plná krev (bílé krvinky 4×10^3 /ml)	100 μ l	1,6 – 2,1 μ g	
	200 μ l	3,8 – 3,9 μ g	
	300 μ l	5,1 – 5,2 μ g	
	400 μ l	8,5 - 8,8 μ g	
Plná krev (bílé krvinky $6,9 \times 10^3$ /ml)	100 μ l	2,9 – 3,1 μ g	
	200 μ l	5,8- 6,2 μ g	
	300 μ l	8,2 -8,8 μ g	
	400 μ l	11,9 – 12,5 μ g	
Plná krev (bílé krvinky $10,9 \times 10^3$ /ml)	100 μ l	4,3- 4,6 μ g	
	200 μ l	8,7-9,1 μ g	
	300 μ l	11,5-12,2 μ g	
	400 μ l	16,6- 17,5 μ g	
K562 buňky		9-9,6 μ g	
		22-25 μ g	

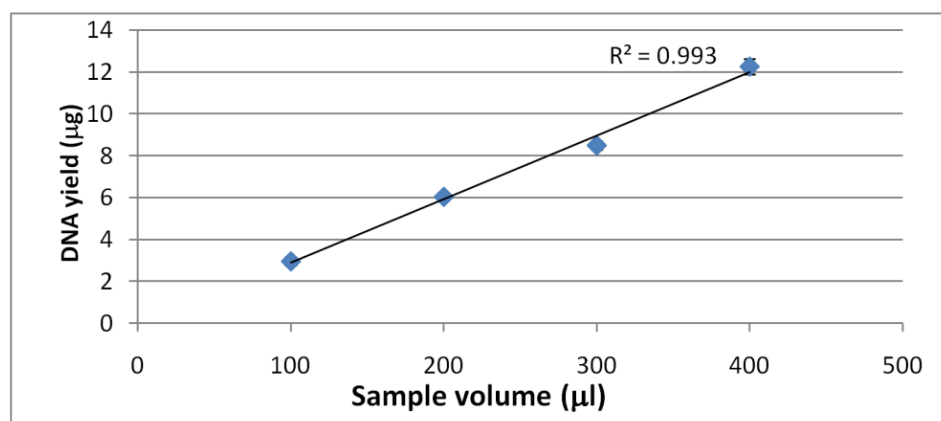
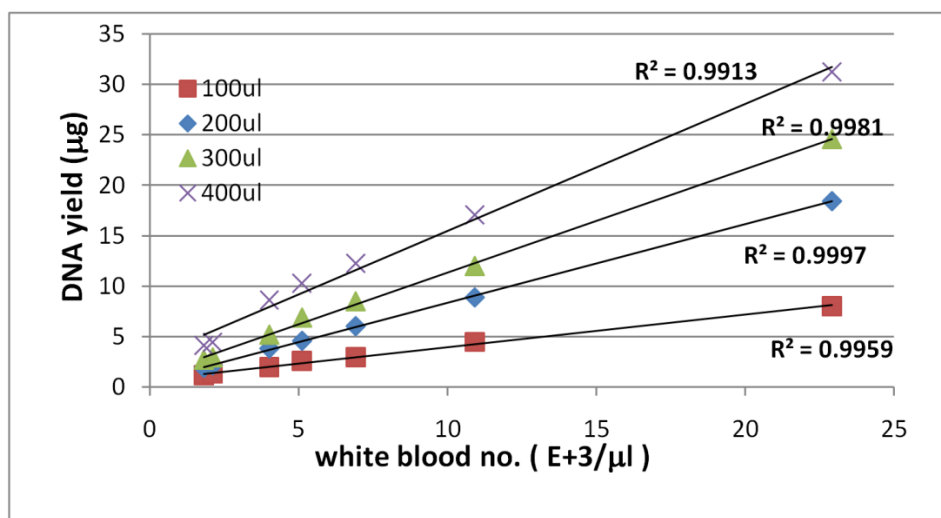
(2) Integrita

DNA byla izolována v 12 duplikátech z 200 μl lidské plné krve. Eluční objem byl nastaven na 100 μl . Integrita DNA byla prokázána u každého vzorku na elektroforéze na TAE agarosovém gelu spolu s markerem Lambda / Hind III (fragmenty o velikosti 0,56, 2,02, 2,32,4,36,6,56,9,42, 23,13 kb). Všechny vzorky prokázaly jednotlivé pásy s molekulovou hmotností větší než 22 kb bez rozmazání

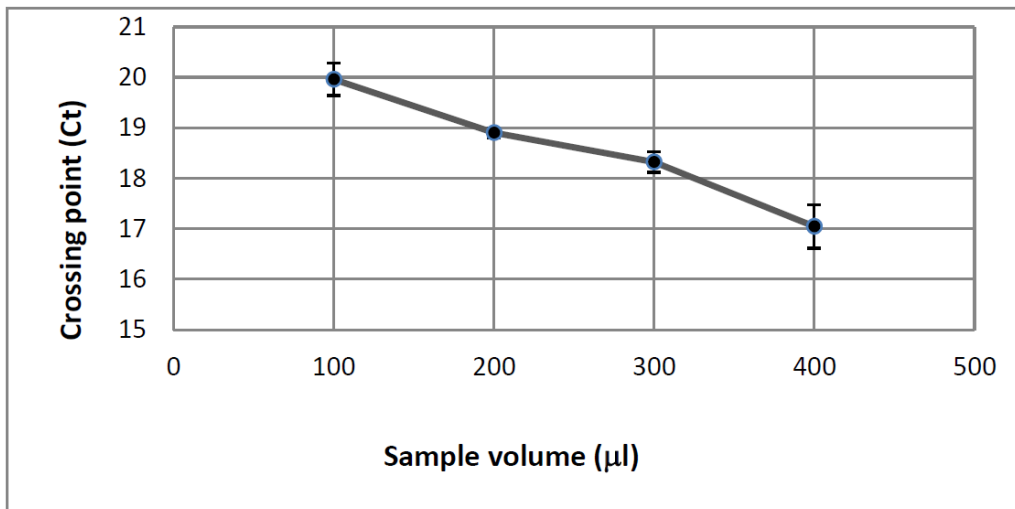


(3) Škálovatelnost

A. DNA byla izolována z různých vzorků plné krve (počet bílých krvinek byl $1,8 - 22 \times 10^3$ buněk / μl). Výtěžek DNA (měřený spektrofotometrem Nanodrop 2000 UV-Vis) vykazuje vynikající škálovatelnost v různých objemech (100, 200, 300 a 400 μl) extrakce a při různém počtu bílých krvinek.

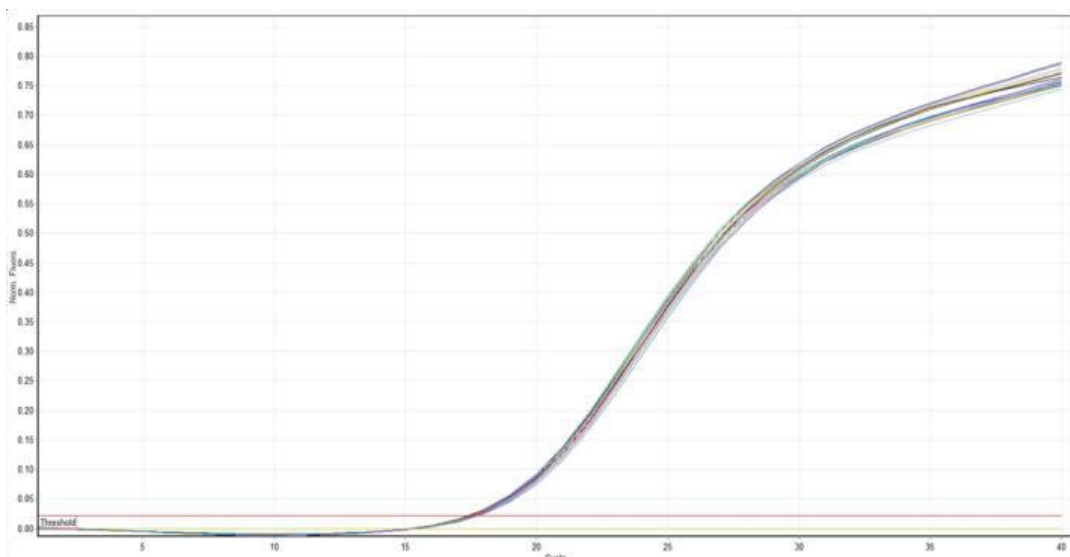


B. DNA izolovaná z různých množství vzorků plné krve byla amplifikována pomocí qPCR v reálném čase za použití primerů specifických pro gen β -globin. Výsledné vynesené body potvrzují škálovatelnost při extrakci.



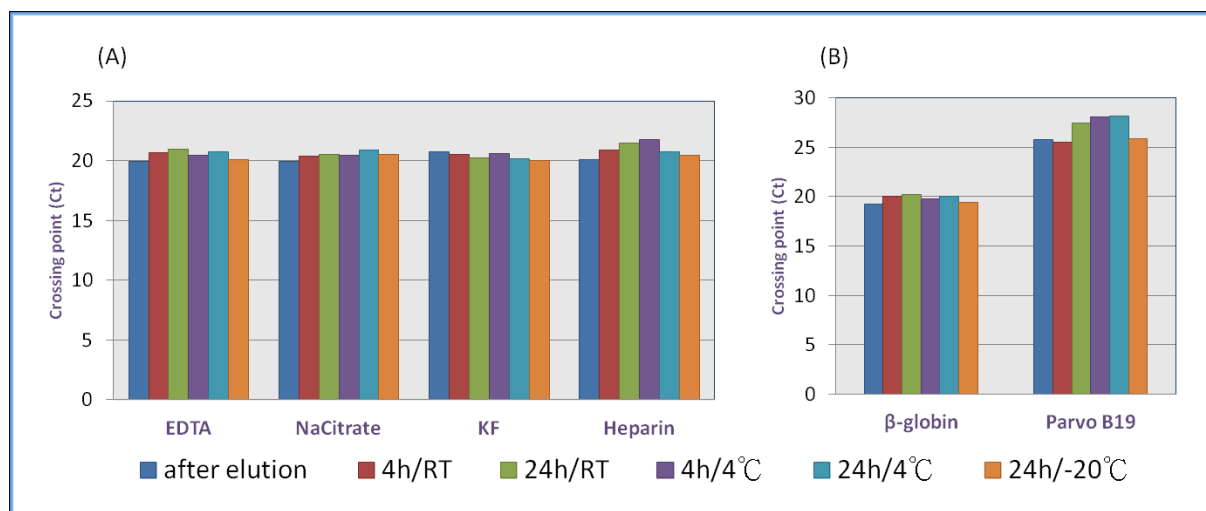
(4) Reprodukovanost

DNA byla izolována soupravou MagPurix Blood DNA Extraction kit 200 ze vzorků plné krve. Geny β -globinu byly detekovány qPCR v reálném čase. Tato data ukazují velmi vysokou stabilitu a reprodukovanost systému purifikace nukleových kyselin MagPurix 12s.



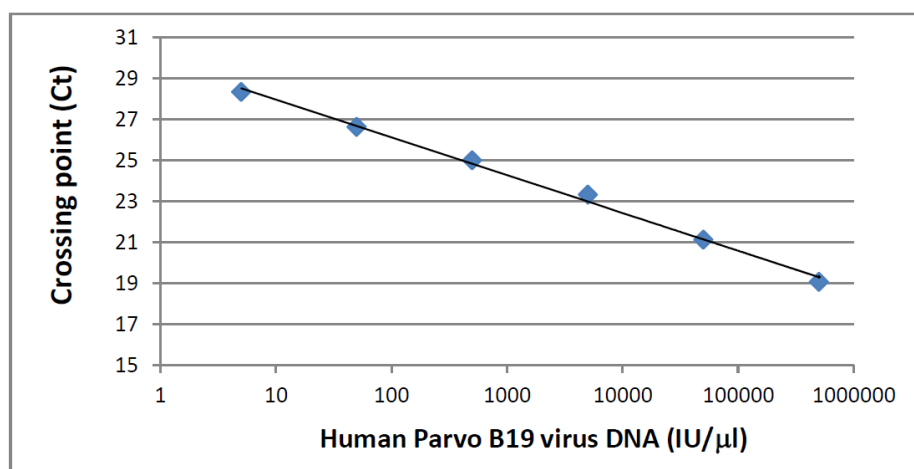
(5) Stabilita

DNA byla extrahována z plné krve soupravou MagPurix Blood DNA Extraction kit 200. V reálném čase byla zjištěna qPCR analýza β -globinu (A) a kontaminace DNA parvoviru B-19 (A, B). Nebyly prokázány žádné významné vlivy na vzorky s různými antikoagulačními látkami a podmínkami skladování.



(6) Citlivost

Použití plné krve (v odběrové zkumavce s EDTA) kontaminované sériovým ředěním lidského viru Parvo B19 (v rozmezí 25-2500000 IU / ml). 200 μ l vzorku bylo extrahováno a eluováno ve 100 μ l. 10 μ l eluátu byl použit pro real-time PCR reakci RealStar® Parvovirus B19 PCR kit 1.0. Ve vzorku byla detekována i extrémě nízká úroveň kontaminace 5 IU (přibližně 1 IU v PCR reakci), což dokládá vynikající citlivost a linearitu izolačního postupu.



Kontroly / interní kontrola

Použití vhodných kontrol pro následnou analýzu:

Typ	Popis	Umístění
Pozitivní kontrola	Použití vzorku pozitivního pro cíl	Vložte do zkumavky pro vzorek
Negativní kontrola	Použití vzorku negativního pro cíl nebo vodu (NTC)	Vložte do zkumavky pro vzorek
Interní kontrola (IC)	Použití definovaného množství kontroly	Umístěte do zkumavky na vzorky nebo do kulaté jamky reakční komory

Kontrola kvality

V souladu se systémem řízení kvality společnosti ZINEXTS, který je certifikován podle ISO, každá řada soupravy MagPurix Blood DNA Extraction kit 200 je testována na základě předem stanovených specifikací pro zajištění konzistentní kvality produktu.