

# MagPurix Forensic DNA Extraction Kit

Kat. č. ZP02010

Doba zpracování: 40-50 minut pro MagPurix 12S

40-60 minut pro MagPurix 24

---

**Použití** Souprava MagPurix Forensic DNA Extraction Kit je určena pro izolátor MagPurix, pro extrakci DNA z forenzních vzorků

---

**Aplikace** Nukleové kyseliny extrahované pomocí soupravy MagPurix Forensic DNA Extraction Kit lze použít v pro kvantifikaci pomocí souprav Quantifiler® Human, Quantifiler® Y Human Male, Quantifiler® Duo DNA Quantification Kits a Investigator® Quantiplex kit, a pro použití pro STR amplifikaci pomocí AmpFISTR® PCR Amplification kits

---

**Počet testů** 48 extrakcí

---

## Složky soupravy

Složky soupravy	ZP02010-48
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 (2 ml)	50 ks (50x1)
Eluční zkumavka (1,5 ml)	50 ks (50x1)
Proteináza K (10mg/ml)	1ks (1 ml)
BL2 pufr	1ks (25 ml)
Filtrační kolonka	50 ks (50x1)
Sběrná 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	prázdná	
jamka 2	Lyzační pufr 3	1000 $\mu$ l
jamka 3	Vazebný pufr 1	1000 $\mu$ l
jamka 4	Roztok magnetických partikulí	800 $\mu$ l
jamka 5	Promývací pufr 1B	1000 $\mu$ l
jamka 6	Promývací pufr A	1000 $\mu$ l
jamka 7	Promývací pufr B	1000 $\mu$ l
jamka 8	Eluční pufr 1	1000 $\mu$ l
jamka 9	Eluční pufr 2	1000 $\mu$ l
jamka 10	prázdná	

---

### Skladování

Souprava MagPurix Forensic DNA Extraction Kit 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).

## Výchozí materiál

- Celá krev, sraženina / vyschlá krev, forenzní povrchové a kontaktní tampóny, vlasové kořínky, sliny, skvrny spermatu, žvýkačky, cigarety, známky, obálky, tkáně atd.

## Příprava vzorku

Typ vzorku	Procedura
Plná krev Čerstvá nebo zamražená)	Chcete-li extrahovat DNA z vzorků plné krve, využijte soupravu MagPurix Blood DNA Extraction Kit 200 (ZP02001)
Sražená/suchá krev	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Použijte 20µl vzorku krve na filtr-papíru nebo obvazu</li><li>2. Vzorek krve se vysušte na vzduchu</li><li>3. Odřízněte část s vzorkem krve, přeneste kusy do zkumavky</li><li>4. Do vzorku přidejte 400µl BL2 a 20µl proteinasy K</li><li>5. Inkubujte při teplotě 56 ° C po dobu 15 minut, několikrát promíchejte vortexem během inkubace nebo umístěte vzorek do termomixeru</li><li>6. Přeneste celý vzorek na filtr umístěný ve zkumavce</li><li>7. Krátce odstředte při 500 x g, 1min</li><li>8. Použijte zkumavky pro extrakci</li></ol>
Forenzní povrchové a kontaktní tampóny	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Nechte tampon nebo stěrový kartáč vyschnout na vzduchu nejméně 2 hodiny po odběru</li><li>2. Opatrně vystříhňte nebo rozlomte koncovou část tamponu nebo štětce do mikrocentrifugační zkumavky o objemu 1,5 ml pomocí vhodného nástroje (např. nůžek)</li><li>3. Do vzorku přidejte 200 nebo 400 µl pufru BL2</li><li>4. Přidejte 20 µl proteinázy K, míchejte vortexem po dobu nejméně 10 s. * Pokud zpracujete vzorky kartáčů, krátce odstředte zkumavku (při 10 000 x g po dobu 30 s), aby se kartáč stočil na dno zkumavky</li><li>5. Inkubujte při teplotě 56 ° C po dobu 15 minut. Míchejte vortexem několikrát během inkubace nebo umístěte vzorek do termomixeru</li><li>6. Přeneste celý vzorek na filtr umístěný ve zkumavce</li><li>7. Krátce odstředte při 500 x g, 1min</li><li>8. Použijte zkumavky pro extrakci</li></ol>

## Vlasové kořínky

Použijte dva nebo tři vlasy odříznuté 0,5-1 cm od kořínků

### (Metoda 1)

1. Vzorek vlasů přeneste do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky
2. Do vzorku přidejte 200µl pufru BL2.
3. Přidejte 20 µl proteinázy K a 10 µl roztoku 1 M DTT \* a důkladně promíchejte vortexem po dobu nejméně 10 s
4. Inkubujte při 56°C po dobu nejméně 6 hodin, několikrát promíchejte vortexem během inkubace nebo umístěte vzorek do termomixeru
5. (volitelně) Přidejte dalších 10 µl proteinasy K a 10 µl DTT a inkubujte při 56°C, dokud nejsou vzorky vlasů zcela rozpuštěny
6. Krátce odstředte zkumavku pro stažení kapek zevnitř víka
7. Přeneste celý vzorek na filtrační kolonku zkumavce
8. Krátce odstředte při 500 x g, 1min
9. Použijte zkumavky pro extrakci

\* Připravte 1M roztok DTT před zpracováním protokolu (1M je asi 15% DTT (m / v))

### (Metoda 2)

1. Vzorek vlasů přeneste do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky
2. Do vzorku přidejte 200µl pufru BL2.
3. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně promíchejte vortexem po dobu nejméně 10 s
4. Inkubujte při 56°C přes noc, několikrát promíchejte vortexem během inkubace nebo umístěte vzorek do termomixeru
5. Krátce odstředte zkumavku pro stažení kapek zevnitř víka
6. Přeneste celý vzorek na filtrační kolonku zkumavce
7. Krátce odstředte při 500 x g, 1min
8. Použijte zkumavky pro extrakci

Lidská tkáň	<p>Pro použití až 40 mg tkáně</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Vzorek tkáně umístěte do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky</li> <li>2. Do vzorku přidejte 200 nebo 400 ul pufru BL2 a 20 µl proteinázy K a důkladně promíchejte vortexem po dobu 10s</li> <li>3. Inkubujte při 56 ° C nejméně po dobu 2 hodin, * několikrát promíchejte v průběhu inkubace nebo umístěte vzorek do termomixeru * Inkubace po delší dobu (např. přes noc) není pro extrakci nukleových kyselin problém</li> <li>4. Krátce odstředte zkumavku pro stažení kapek zevnitř víka</li> <li>5. Přeneste celý vzorek na filtrační kolonku zkumavce</li> <li>6. Krátce odstředte při 500 x g, 1min</li> <li>7. Použijte zkumavky pro extrakci</li> </ol>
Sliny	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky přeneste až 50 µl slin</li> <li>2. Do vzorku přidejte 200 µl pufru BL2</li> <li>3. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně promíchejte vortexem po dobu 10 s</li> <li>4. Inkubujte při teplotě 56 ° C po dobu 15 minut, několikrát promíchejte vortexem během inkubace nebo umístěte vzorek do termomixeru.</li> <li>5. Krátce odstředte zkumavku pro stažení kapek zevnitř víka</li> <li>6. Vezměte zkumavku 200 µl na extrakci</li> </ol>
Stopy spermatu	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Do centrifugační zkumavky o objemu 1,5 ml přeneste 5 až 10 µl nebo 1 cm2 forenzního vzorku</li> <li>2. Do vzorku přidejte 200 nebo 400 ul pufru BL2</li> <li>3. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně promíchejte vortexem po dobu 10 s</li> <li>4. Inkubujte při teplotě 56 ° C po dobu 15 minut, několikrát promíchejte v průběhu inkubace nebo umístěte vzorek do termomixeru</li> <li>5. Krátce odstředte zkumavku pro stažení kapek zevnitř vík</li> <li>6. Přeneste celý vzorek na filtr umístěný ve zkumavce</li> <li>7. Krátké odstředte při 500 x g, 1min</li> <li>8. Použijte zkumavku pro extrakci</li> </ol>

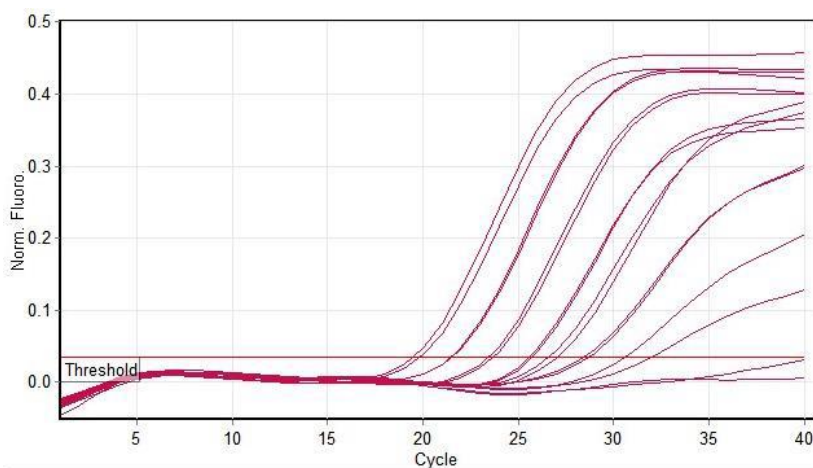
Žvýkačka	<p>Doporučuje se použití až 40 mg žvýkaček rozřezaných na malé kousky</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Přeneste vzorek žvýkací gumy do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky</li> <li>2. Do vzorku přidejte 200µl pufru BL2.</li> <li>3. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně promíchejte vortexem po dobu 10 s.</li> <li>4. Inkubujte při teplotě 56 ° C po dobu 15 minut, několikrát promíchejte v průběhu inkubace nebo umístěte vzorek do termomixeru</li> <li>5. Krátce odstředte zkumavku pro stažení kapek zevnitř vík</li> <li>6. Použijte zkumavku pro extrakci</li> </ol>
Cigaretové nedopalky	<p>Doporučuje se použít přibližně 1 cm<sup>2</sup> papíru z konce cigarety nebo filtru</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Vzorek cigaretového nedopalku umístěte do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky</li> <li>2. Do vzorku přidejte 200 nebo 400 µl pufru BL2 (Zkontrolujte, zda vzorek absorboval pufr BL2, v případě potřeby přidejte do vzorku další pufr BL2)</li> <li>3. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně promíchejte vortexem po dobu 10 s</li> <li>4. Inkubujte při teplotě 56 ° C po dobu 15 minut, několikrát promíchejte v průběhu inkubace nebo umístěte vzorek do termomixeru</li> <li>5. Krátce odstředte zkumavku pro stažení kapek zevnitř vík</li> <li>6. Použijte 200µl do zkumavky pro extrakci</li> </ol>
Známky, obálky	<p>Použije se poštovní známka nebo obálka o rozměrech 0,5-2,5 cm<sup>2</sup></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Všechny vzorky se umístí do 1,5 ml mikrocentrifugační zkumavky</li> <li>2. Do vzorku přidejte 200 nebo 400 µl pufru BL2 (Zkontrolujte, zda vzorek absorboval pufr BL2, v případě potřeby přidejte do vzorku další pufr BL2)</li> <li>3. Přidejte 20 µl proteinázy K a důkladně promíchejte vortexem po dobu 10 s</li> <li>4. Inkubujte při teplotě 56 ° C po dobu 15 minut, několikrát promíchejte v průběhu inkubace nebo umístěte vzorek do teploměru</li> <li>5. Krátkou zkumavku odstraňte z vnitřku víka</li> <li>6. Vezměte 200 µl vzorku do vzorku pro extrakci</li> </ol>

## Výsledek

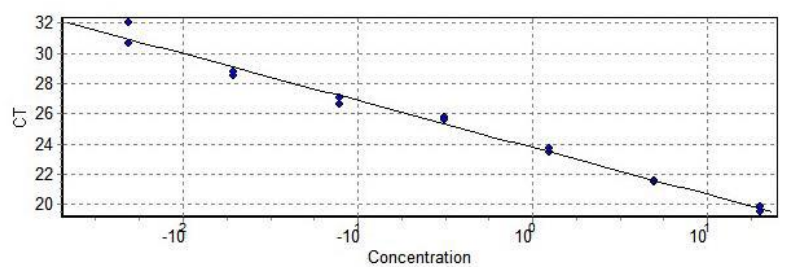
### (1) Výnos

Pro kvantifikaci lidské genomové DNA byl použit kit QIAGEN Investigator® Quanplexplex. Standardní křivka (obr. 1A a 1B) byla stanovena pomocí standardů pro výpočet koncentrace genomové DNA. Výsledky byly vyneseny jako Ct a počítány pomocí PCR v reálném čase (tabulka 1)

**Fig.1A**



**Standard Curve**



**Fig. 1B**

Name	Ct	Given Conc (ug/u)	Calc Conc (ug/ul)	Rep. Ct
Control DNA Z1 20ng/μl	19.52	20	23.4924293079773	19.70
Control DNA Z1 20ng/μl	19.89	20	17.743816822679	
Control DNA Z1 5ng/μl	21.53	5	5.28297255153993	21.54
Control DNA Z1 5ng/μl	21.56	5	5.15506510351862	
Control DNA Z1 1,25ng/μl	23.72	1.25	1.03901378233338	23.60
Control DNA Z1 1,25ng/μl	23.48	1.25	1.23756811894785	
Control DNA Z1 0,3125ng/μl	25.76	0.3125	0.228298414974509	25.69
Control DNA Z1 0,3125ng/μl	25.63	0.3125	0.251925125265275	
Control DNA Z1 0,078125ng/μl	26.64	0.078125	0.118599321404503	26.86
Control DNA Z1 0,078125ng/μl	27.08	0.078125	8.58029166440412E-02	
Control DNA Z1 0,01953125ng/μl	28.51	0.01953125	2.97115046127299E-02	28.62
Control DNA Z1 0,01953125ng/μl	28.74	0.01953125	2.50882331404593E-02	
Control DNA Z1 0,0048828125ng/μl	32.02	0.004882813	2.18504909354026E-03	31.33
Control DNA Z1 0,0048828125ng/μl	30.64	0.004882813	6.08706490645644E-03	
NTC				
NTC				

Tabulka 1

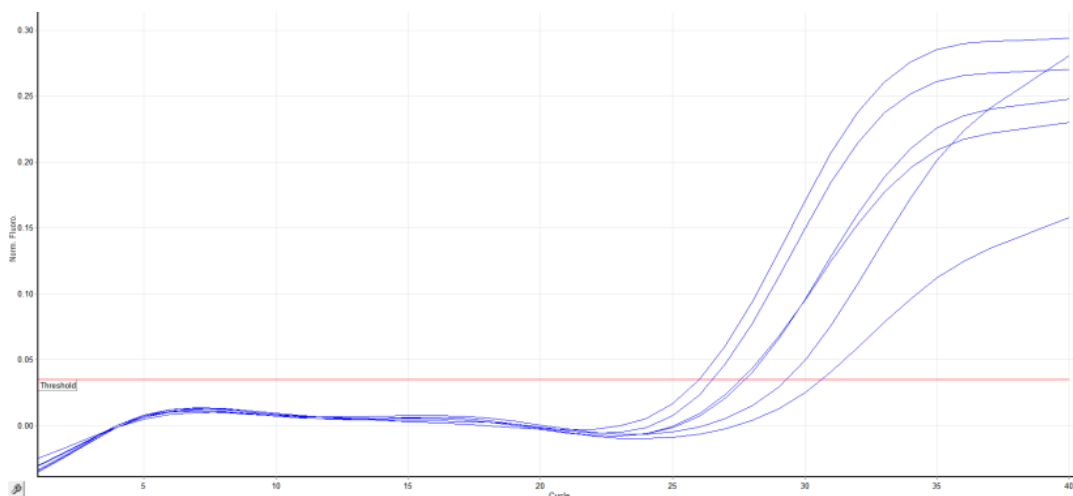
Typ vzorku	Výsledky analýzy získané pomocí kitu investigator® Quantiplex	
	Ct	Con. (ng/μl)
Ústní stěr	21-25	3-17
Cigaretový nedopalek	25-26	1,2-1,6
Stěr z okraje sklenice	27-28	0,4-0,5
Brčko	30,5-31	0,048
Vlasové kořínky	27-38	0,0005-0,68
Nehty	27-29	0,2-0,7
Sušené betelové oříšky – 10mg	26-27	0,9-1,2
Skvrna vyschlé krve -2μl*	29,3-30,6	0,01-0,006
Skvrna vyschlé krve -5μl*	27,5-27,8	0,051-0,057
Skvrna vyschlé krve -10μl*	26-26,5	0,12-0,18

- Použijte vzorek krve, kde počet bílých krvinek je okolo 5000 buněk/μl

## (2) Škálovatelnost

Vytvořte krvavé skvrny různá velikosti přidáním 2, 5 a 10 ml krve na filtrační papír. Nechte krev na vzduchu zaschnout a extrahujte DNA soupravou MagPurix Forensic DNA kit. Výsledek byl analyzován soupravou Investigator® Quantiplex:

Name	Ct	Calc Conc (ug/ul)	Rep. Ct
NTC			
NTC			
2ul blood spot-wc5000	29.32	1.61428677713519E-02	29.99
2ul blood spot-wc5000	30.66	5.90729200049097E-03	
5ul blood spot-wc5000	27.62	5.73272999113135E-02	27.70
5ul blood spot-wc5000	27.77	5.14260571412719E-02	
10ul blood spot-wc5000	26.01	0.191026109793408	26.28
10ul blood spot-wc5000	26.55	0.128416666068004	





## 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 Forensic DNA Extraction Kit je testována na základě předem stanovených specifikací pro zajištění konzistentní kvality produktu.