

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Produkt	Präparationen
M6399-01CEIVD	4 x 96 Präparationen

Datum des Handbuchs: Juli 2023
Revisionsnummer: v1.2



Für die In-vitro-Diagnostik



Omega Bio-tek, Inc.
400 Pinnacle Way, Suite 450
Norcross, GA 30071, USA



www.omegabiotek.com



+1-770-931-8400



+1-770-931-0230



info@omegabiotek.com



[omegabio-tek](https://www.linkedin.com/company/omegabio-tek)



[omegabiotek](https://twitter.com/omegabiotek)



[omegabiotek](https://www.facebook.com/omegabiotek)

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Inhaltsverzeichnis

Verwendungszweck und Anwender.....	2
Produktbeschreibung.....	3
Inhalt des Kits.....	4
Lagerung und Haltbarkeit.....	4
Geräte zur magnetischen Auftrennung und Plastikverbrauchsmaterialien.....	4
Zubereitung der Reagenzien.....	5
Qualitätskontrolle.....	6
Warnhinweise/Sicherheitsinformationen.....	6
Vorsichtsmaßnahmen.....	7
Einschränkungen.....	9
Protokoll für Blutproben.....	10
Protokoll für Gewebeproben.....	14
Protokoll für kultivierte Zellen.....	19
Protokoll für Speichelproben.....	24
Protokoll für Wangenabstriche.....	28
Kontaktinformationen.....	32
Symbole.....	33
Revisionsverlauf.....	35
Hinweise und Haftungsausschlüsse.....	36

Datum des Handbuchs: Juli 2023

Revisionsnummer: v1.2



Verwendungszweck

Für die In-vitro-Diagnostik.

Das Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD dient der Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus frischen oder gefrorenen kultivierten Zellen und Geweben, für bis zu 250 µl Vollblut, Wangenabstrichen, bis zu 500 µl Speichel sowie getrockneten Blutspots.

Das Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD verwendet Technologie auf der Basis von Magnetbeads und kann entweder manuell oder automatisch auf den meisten offenen Liquid-Handling-Plattformen sowie Magnetprozessoren verarbeitet werden.

Anwender

Dieses Kit ist für geschulte Anwender vorgesehen.

The Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD ist für den In-vitro-Gebrauch bestimmt und ist von geschulten Anwendern wie Laborpersonal, Technikern, Forschern und Ärzten zu verwenden, die speziell in molekularbiologischen Techniken geschult und mit der manuellen oder automatisierten Aufreinigung auf der Basis von Magnetbeads vertraut sind.

Produktbeschreibung

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD bietet eine vielseitige Methode für die Isolierung von hochwertiger DNA aus einer Vielzahl von Proben, einschließlich von frischen oder gefrorenen kultivierten tierischen Zellen, bis zu 250 µl Vollblut, Wangenabstrichen, bis zu 500 µl Speichel sowie getrockneten Blutspots. Mag-Bind® Particles HDQ bieten eine schnelle magnetische Reaktionszeit und reduzieren so die gesamte Verarbeitungszeit. Das System kombiniert die reversiblen Nukleinsäure-Bindungseigenschaften der paramagnetischen Mag-Bind® Particles mit der bewährten Effizienz der Omega-Bio-tek-Pufferchemie und bietet so eine schnelle und praktische Methode zur Isolierung von DNA aus einer Vielzahl von Proben. Die Aufreinigungsmethode liefert hochwertige DNA, die direkt in den meisten nachfolgenden Anwendungen wie Amplifizierungen, Sequenzierung der nächsten Generation und enzymatischen Reaktionen eingesetzt werden kann.

Sollten Sie das Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD Kit zum ersten Mal benutzen, lesen Sie bitte die gesamte Broschüre, um sich mit dem Verfahren vertraut zu machen. Die Proben werden in Puffersystemen lysiert, die auf jede Art von Ausgangsmaterial speziell abgestimmt sind. Nach der Lyse werden die Proben mit HDQ-Bindungspuffer und Mag-Bind® Particles HDQ gemischt, sodass die DNA an die Magnetbeads bindet. Die paramagnetischen Partikel werden mithilfe eines Geräts zur magnetischen Auftrennung aus dem Lysat entfernt. Nach einigen schnellen Waschschritten zur Entfernung von Kontaminanten wird die DNA mit Elutionspuffer eluiert.

Eine Übersicht über Verfahren zur Isolierung und Reinigung von DNA/RNA wird in der folgenden Referenzliteratur bereitgestellt^{1,2}.

Wichtig:

1. Wenn Sie dieses Verfahren auf einem Liquid Handler oder einem Magnetprozessor automatisieren möchten, lassen Sie sich bitte von Ihrem Omega Bio-tek-Vertreter gerätespezifische Anweisungen geben.
2. Die Kits enthalten ausreichend Reagenzien für die angegebene Anzahl an Präparaten sowie einen zusätzlichen Überschuss von 10 %, um sicherzustellen, dass genügend Volumen vorhanden ist. Die tatsächliche Anzahl der Präparate kann aufgrund von Voraliquotierung der Reagenzien, der Bearbeitung von nicht vollständig ausgenutzten Platten, der verwendeten Automatisierungsplattform usw. geringer sein.

¹ Ali, N., Rampazzo, R., Costa, A., & Krieger, M. A. (2017). Current Nucleic Acid Extraction Methods and Their Implications to Point-of-Care Diagnostics. *BioMed research international*, 2017, 9306564. <https://doi.org/10.1155/2017/9306564>

² Geciova, J., Bury, D., & Jelen, P. (2002). Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry—a review. *International Dairy Journal*, 12(6), 541-553.

Inhalt des Kits

Produkt	M6399-01CEIVD
Aufreinigungen	4 x 96
AL-Puffer	125 ml
TL-Puffer	120 ml
HDQ-Bindungspuffer	40 ml
VHB-Puffer	230 ml
SPM-Puffer	150 ml
Elutionspuffer	250 ml
Proteinase-K-Lösung	9 ml
Mag-Bind® Particles HDQ	9 ml

Lagerung und Stabilität

Die Haltbarkeit aller Komponenten des Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD wird bei Lagerung unter folgenden Bedingungen für mindestens 12 Monate ab dem Kaufdatum gewährleistet. Proteinase-K-Lösung kann bis zu 12 Monate lang bei Raumtemperatur gelagert werden. Proteinase-K-Lösung zur langfristigen Aufbewahrung bei 2 °C bis 8 °C lagern. Alle anderen Komponenten bei Raumtemperatur lagern. Das Produkt nach dem Öffnen unter den aufgelisteten Bedingungen lagern. Die Behälter nach jedem Gebrauch gut verschließen. Beim Versand oder bei der Lagerung unter kühlen Umgebungsbedingungen können sich in einigen Puffern Präzipitate bilden. Diese Ablagerungen können durch Erwärmen der Lösung auf 37 °C und leichtes Schütteln aufgelöst werden.

Geräte zur magnetischen Auftrennung und Plastikverbrauchsmaterialien

Viele Geräte zur magnetischen Aufreinigung sind mit dem Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD kompatibel. Wir empfehlen die Verwendung der Magnum™ EX Universal-Magnetplatte von Alpaqua (Produktnummer A000380) in Verbindung mit 2-ml-DeepWell™ Platten von Nunc (Produktnummer 278752). Diese Kombination ermöglicht schnelle Magnetisierungszeiten von nur 1 Minute bis zur vollständigen Magnetisierung während der Waschschrte und 5 Minuten für Schritte zur Lysatklärung.

Unabhängig vom verwendeten Gerät muss sichergestellt werden, dass die für dieses Kit benötigten Plastikverbrauchsmaterialien mit dem Gerät kompatibel sind.

Vorbereitung der Reagenzien

1. Den SPM-Puffer mit 350 ml Ethanol 100 % verdünnen und bei Raumtemperatur lagern.
2. Den VHB-Puffer mit 290 ml Ethanol 100 % vorbereiten und bei Raumtemperatur lagern.
3. Den HDQ-Bindungspuffer mit 160 ml Isopropanol 100 % vorbereiten und bei Raumtemperatur lagern.
4. Die Mag-Bind® Particles HDQ vor der Anwendung schütteln oder vortexen, um die Partikel vollständig zu resuspendieren. Die Partikel müssen vollständig suspendiert sein, um eine angemessene Bindung zu gewährleisten.

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagementsystem von Omega Bio-tek werden alle Reagenzien des Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD routinemäßig anhand vorgegebener Spezifikationen von Charge zu Charge getestet, um eine zuverlässige Leistung und gleichbleibende Produktqualität zu gewährleisten.

Warnhinweise

Das Kit ist für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.

Vor der Verwendung des Kits alle Anweisungen lesen.

Alle potenziell infektiösen Materialien gemäß den geltenden lokalen, staatlichen und europäischen Vorschriften dekontaminieren und entsorgen. Kunden in der Europäischen Union sind verpflichtet, schwerwiegende Vorfälle im Zusammenhang mit dem Produkt dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats zu melden, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist. Wenn Sie Hilfe benötigen, wenden Sie sich bitte an Omega Bio-tek unter info@omegabiotek.com.

Wird dieses Kit im Anschluss an ein automatisiertes Extraktionsverfahren benutzt, gilt die Oberfläche der automatisierten Plattform als biogefährlich. Geeignete Dekontaminations- und Entsorgungsmethoden unter Einhaltung aller geltenden örtlichen, staatlichen und/oder nationalen Vorschriften verwenden.

Sicherheitsinformationen

Alle Chemikalien und biologischen Materialien sind als möglicherweise gefährlich anzusehen.

Biologische Proben, wie z. B. Plasma, Serum, Gewebe, Körperflüssigkeiten, Blut usw., sind möglicherweise infektiös und müssen als biogefährliche Materialien behandelt werden. Alle Arbeiten müssen in ordnungsgemäß ausgestatteten Einrichtungen unter Beachtung allgemeiner Vorsichtsmaßnahmen und unter Verwendung geeigneter persönlicher Schutzausrüstung, wie z. B. Einweghandschuhe, Laborkittel, Schutzbrillen usw., gemäß den von Ihrer Einrichtung festgelegten Richtlinien und Verfahren durchgeführt werden.

Informationen über die sichere Handhabung, den sicheren Transport und zur sicheren Entsorgung der verschiedenen Reagenzien sind in den mitgelieferten Sicherheitsdatenblättern enthalten. Sicherheitsdatenblätter finden Sie als PDF-Dateien auf der Produkt-Webseite unter www.omegabiotek.com. Alle Abfälle gemäß den örtlichen Sicherheitsvorschriften entsorgen.

Warnhinweise

Einige der im Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD mitgelieferten Puffer enthalten chaotrope Mittel auf Guanidinbasis, die in Verbindung mit Bleichmitteln hochreaktive Verbindungen bilden können. Guanidinhaltigen Abfällen aus der Probenvorbereitung **dürfen KEINE Bleichmittel oder saure Lösungen hinzugefügt werden**. Die online verfügbaren Sicherheitsdatenblätter enthalten detaillierte Informationen über die Reagenzien.

Komponente	Beschreibung
AL-Puffer	Enthält: Guanidinhydrochlorid. Warnung! Verursacht schwere Augenreizung. Verursacht Hautreizungen. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Essen, trinken oder rauchen Sie nicht, wenn Sie dieses Produkt verwenden. Waschen Sie alle exponierten äußeren Körperbereiche nach der Handhabung gründlich. Schutzhandschuhe, Schutzkleidung, Augenschutz und Gesichtsschutz tragen. IN DEN AUGEN: Einige Minuten lang vorsichtig mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls vorhanden und einfach zu tun. Spülen Sie weiter. Bei anhaltender Augenreizung ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. AN DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen, wenn Hautreizung oder Hautausschlag auftritt. VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. Bei Unwohlsein Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen.
TL-Puffer	Enthält: Anionisches Detergent. Warnung! Verursacht schwere Augenreizungen. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Das Einatmen von Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung darf den Arbeitsplatz nicht verlassen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. AUGENKONTAKT: Mehrere Minuten lang vorsichtig mit Wasser spülen. Gegebenenfalls Kontaktlinsen entfernen, falls dies problemlos möglich ist. Weiterspülen. Bei anhaltender Augenreizung ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe in Anspruch nehmen. HAUTKONTAKT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizungen oder Hautausschlägen ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe in Anspruch nehmen. Kontaminierte Kleidung vor der erneuten Verwendung waschen.
Proteinase-K-Lösung	Enthält: Proteinase K. Gefahr! Verursacht leichte Hautreizungen. Kann bei Einatmen Allergie- oder Asthmasymptome oder Atembeschwerden hervorrufen. Das Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Atemschutz tragen. Bei Exposition oder Besorgnis: Giftnotrufzentrale oder Arzt anrufen. Die betroffene Person an die frische Luft bringen und in einer Position halten, die das Atmen erleichtert.

Vorsichtsmaßnahmen

Komponente	Beschreibung
HDQ-Bindungspuffer   	<p>Enthält: Natriumperchlorat. Achtung! Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition. Kann Feuer oder Explosion verursachen; starkes Oxidationsmittel. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Rauchen verboten. Von Kleidung und anderen brennbaren Materialien fernhalten. Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen. Alle exponierten äußeren Körperbereiche nach der Handhabung gründlich waschen. Essen, trinken oder rauchen Sie nicht, wenn Sie dieses Produkt verwenden. Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt/Arzt/Ersthelfer anrufen. AUF DER KLEIDUNG: Kontaminierte Kleidung und Haut sofort mit viel Wasser abspülen, bevor die Kleidung entfernt wird. Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei Brand: Zum Löschen ... verwenden. Bei Großbrand und großen Mengen: Umgebung räumen. Wegen Explosionsgefahr Feuer aus der Ferne bekämpfen.</p>
VHB-Puffer 	<p>Enthält: Guanidiniumchlorid. Warnung! Verursacht schwere Augenreizungen. Verursacht Hautreizungen. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Das Einatmen von Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Bei der Verwendung des Produkts nicht essen, trinken oder rauchen. Kontaminierte Arbeitskleidung darf den Arbeitsplatz nicht verlassen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei Exposition oder Besorgnis: Giftnotrufzentrale oder Arzt anrufen. AUGENKONTAKT: Mehrere Minuten lang vorsichtig mit Wasser spülen. Gegebenenfalls Kontaktlinsen entfernen, falls dies problemlos möglich ist. Weiterspülen. Bei anhaltender Augenreizung ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe in Anspruch nehmen. Kontaminierte Kleidung entfernen und vor der erneuten Verwendung waschen. HAUTKONTAKT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizungen oder Hautausschlägen ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe in Anspruch nehmen. BEI VERSCHLUCKEN: Den Mund spülen. Bei Unwohlsein Giftnotzentrale oder Arzt anrufen.</p>

Einschränkungen

Die Leistung des Kits wurde durch Isolierung genomischer DNA aus 250 µl Vollblut, Wangenabstrichen, 500 µl konserviertem Speichel und kultivierten Zellen bewertet. Die Leistung des Kits wurde ferner durch Bewertung der Eignung der aufgereinigten genomischen DNA in der direkten nachgelagerten Analyse durch eine standardmäßige Amplifikationsmethode bestimmt. Der Anwender ist für die Überprüfung der Leistungsmerkmale für alle Verfahren verantwortlich, die nicht durch die Leistungsbewertungsstudien von Omega Bio-tek abgedeckt sind. Der Anwender ist auch für die Festlegung der Leistungskennzahlen verantwortlich, die für die von ihm gewählte nachgeschaltete Diagnoseanwendung erforderlich sind. Bei jeder nachgeschalteten diagnostischen Anwendung, bei der mit dem Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD aufgereinigte genomische DNA verwendet wird, müssen geeignete und angemessene Kontrollen durchgeführt werden.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Protokoll für Blutproben

Das folgende Verfahren wurde für die Verwendung von FRISCHEN oder GEFRORENEN Blutproben mit einem Volumen von 250 µl optimiert. Der Leukozytenfilm kann ebenfalls verwendet werden.

Wichtig: Wenn Sie dieses Verfahren auf einem Liquid Handler oder einem Magnetprozessor automatisieren möchten, lassen Sie sich bitte von Ihrem Omega Bio-tek-Vertreter gerätespezifische Anweisungen geben.

Durch den Anwender bereitzustellende Materialien und Reagenzien:

- Gerät zur magnetischen Auftrennung (empfohlen Alpaqua Magnum™ EX, Produktnummer A000380)
- Vortexer
- Heizblock, Inkubator oder Wasserbad, die 70 °C erreichen
- 96-Well-Mikroplatte (500 µl) oder gewünschte Elutionsplatte
- 96-Well-Deep-Well-Platte mit einem Volumen von 2 ml (empfohlen Nunc, Produktnummer 278752) oder gewünschte, mit dem Gerät zur magnetischen Auftrennung kompatible Platte
- Mehrkanalpipetten und Reagenzienreservoirs
- Ethanol 100 %
- Isopropanol 100 %
- Nuklease-freies Wasser
- Optional: RNase A (10 mg/ml)
- Optional: PBS

Vor Beginn:

- Den SPM-Puffer, VHB-Puffer und den HDQ-Bindungspuffer gemäß Abschnitt „Vorbereitung der Reagenzien“ auf Seite 5 vorbereiten.
- Heizblock, Inkubator oder Wasserbad auf 70 °C vorheizen.

1. Den Mastermix aus AL-Puffer und Proteinase-K-Lösung nur für die zu extrahierenden Proben gemäß der folgenden Tabelle vorbereiten:

Komponente	Menge pro Probe	Gesamtmenge pro 96-Well-Platte
AL-Puffer	290 µl	30,6 ml*
Proteinase-K-Lösung	20 µl	2,1 ml*

* Ein Überschussvolumen von 10 % wurde für eine 96-Well-Platte berechnet.

Wichtig: Nur die Menge an Mastermix aus AL-Puffer/Proteinase-K-Lösung vorbereiten, die innerhalb von 4 Stunden aufgebraucht wird.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

2. 250 µl der Blutprobe auf eine 2-ml 96-Well-Deep-Well-Platte geben (nicht mitgeliefert). Is das Volumen der Blutprobe kleiner als 250 µl, mit PBS-Puffer (nicht mitgeliefert) oder Elutionspuffer (mitgeliefert) auf 250 µl auffüllen.
3. Zu jeder Probe 310 µl Mastermix aus AL-Puffer/Proteinase-K-Lösung hinzugeben. Durch Vortexen oder 20-maliges Auf- und Abpipettieren durchmischen. Gutes Mischen ist ausschlaggebend für eine gute Ausbeute.

Hinweis: Für beste Ausbeuten wird bei automatisierten Protokollen das Mischen mit Pipettenspitzen empfohlen.

4. Bei 70 °C 10 Minuten lang inkubieren.

Optional: 5 µl RNase A zu jeder Probe hinzugeben. Zum Mischen vortexen. Zwei Minuten lang bei Raumtemperatur stehenlassen.

5. Zu jeder Probe 400 µl HDQ-Bindungspuffer und 20 µl Mag-Bind® Particles HDQ hinzugeben. Zum Mischen 10 Minuten lang vortexen.

Hinweis:

- Der HDQ-Bindungspuffer muss vor der Verwendung mit Isopropanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5. HDQ-Bindungspuffer und Mag-Bind® Particles HDQ können vor der Anwendung als Mastermix vorbereitet werden. Nur die für den jeweiligen Lauf benötigte Menge zubereiten.
- Wenn konstantes Vortexen für 10 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 10 Minuten alle 2 Minuten 30 Sekunden lang vortexen.

6. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
7. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
8. Die Platte vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
9. Zu jeder Probe 600 µl VHB-Puffer hinzugeben.

Hinweis: Der VHB-Puffer muss vor der Verwendung mit Ethanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5.

10. Zum Mischen 15 Sekunden lang vortexen.

Hinweis: Vollständiges Resuspendieren der Mag-Bind® Particles HDQ ist wichtig, um eine gute Reinheit zu erzielen.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

11. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
12. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
13. Die Platte vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
14. Schritte 9 bis 13 für einen zweiten Schritt mit VHB-Puffer wiederholen.
15. Zu jeder Probe 600 µl SPM-Puffer hinzugeben.

Hinweis: Der SPM-Puffer muss vor der Verwendung mit Ethanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5.

16. Zum Mischen 15 Sekunden lang vortexen.
17. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
18. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
19. Ethanol mit einem der folgenden Schritte entfernen:
 - A. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung belassen. 500 µl Nuklease-freies Wasser (nicht mitgeliefert) hinzufügen, 20 bis 30 Sekunden lang auf dem Magneten belassen und dann abpipettieren. Das Nuklease-freie Wasser nicht länger als 60 Sekunden lang auf den Mag-Bind® Particles HDQ belassen. Mit Schritt 20 fortfahren.

ODER

- B. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung belassen. Eine Minute lang warten. Die restliche Flüssigkeit mit einer Pipette entfernen. Die Mag-Bind® Particles HDQ weitere 10 Minuten lang trocknen. Mit Schritt 20 fortfahren.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

20. Die Platte vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
21. 50 µl bis 200 µl Elutionspuffer oder Nuklease-freies Wasser hinzufügen, um die DNA von den Mag-Bind® Particles HDQ zu eluieren.

Hinweis: Zur Verbesserung der Ausbeute den Elutionspuffer oder das Nuklease-freie Wasser auf 70 °C erhitzen.

22. Zum Mischen 5 Minuten lang vortexen.

Hinweis: Wenn konstantes Vortexen für 5 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 5 Minuten alle 1 bis 2 Minuten 15 Sekunden lang vortexen.

23. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
24. Den klaren Überstand, der aufgereinigte DNA enthält, auf eine 96-Well-Mikroplatte (nicht mitgeliefert) übertragen. DNA bei -20 °C aufbewahren.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Protokoll für Gewebeproben

Diese Methode ermöglicht das Isolieren genomischer DNA aus bis zu 10 mg Gewebe. Die Höhe der Ausbeute hängt vom Ausgangsmaterial ab.

Wichtig: Wenn Sie dieses Verfahren auf einem Liquid Handler oder einem Magnetprozessor automatisieren möchten, lassen Sie sich bitte von Ihrem Omega Bio-tek-Vertreter gerätespezifische Anweisungen geben.

Durch den Anwender bereitzustellende Materialien und Geräte:

- Gerät zur magnetischen Auftrennung (empfohlen Alpaqua Magnum™ EX, Produktnummer A000380)
- Vortexer
- Zentrifuge mit Ausschwingrotor, die 4000 g erreicht
- Zentrifugenadapter für 96-Well-Platten
- Schüttelwasserbad, das 55 °C erreicht
- 96-Well-Mikroplatte (500 µl) oder gewünschte Elutionsplatte
- 96-Well-Deep-Well-Platten mit einem Volumen von 2 ml (empfohlen Nunc, Produktnummer 278752) oder gewünschte, mit dem Gerät zur magnetischen Auftrennung kompatible Platte
- Mehrkanalpipetten und Reagenzienreservoirs
- Ethanol 100 %
- Isopropanol 100 %
- Nuklease-freies Wasser
- Empfohlen: 1 M Dithiothreitol (DTT)
- Optional: RNase A (10 mg/ml)
- Optional: Heizblock, Inkubator oder Wasserbad, die 70 °C erreichen
- Optional: Flüssiger Stickstoff sowie Mörser und Pistill

Vor Beginn:

- Den SPM-Puffer, VHB-Puffer und den HDQ-Bindungspuffer gemäß Abschnitt „Vorbereitung der Reagenzien“ auf Seite 5 vorbereiten.
- Ein Wasserbad auf 55 °C vorheizen.
- Optional: Wasserbad, Inkubator oder Heizblock auf 70 °C vorheizen.
- Empfohlen: Vor der Anwendung 40 µl 1 M DTT pro 1 ml TL-Puffer hinzufügen.

OPTIONAL: Mechanische Homogenisierung von Gewebe ist nicht erforderlich, allerdings kann Pulverisieren der Probe in flüssigem Stickstoff die Lyse verbessern und Inkubationszeiten verringern. Das pulverisierte Gewebe auf eine saubere 96-Well-Deep-Well-Platte (nicht mitgeliefert) übertragen, sobald der flüssige Stickstoff verdunstet ist. 250 µl TL-Puffer hinzufügen und mit Schritt 3 auf der nächsten Seite fortfahren.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

1. Bis zu 10 mg Gewebe zerkleinern und auf eine 96-Well-Deep-Well-Platte (nicht mitgeliefert) überführen.

Hinweis: Zerschneiden des Gewebes in kleine Stücke kann die Lyse beschleunigen.

2. Zu jeder Probe 250 µl TL-Puffer hinzugeben.

Optional: Für die Lyse von Haaren oder anderen schwer zu lysierenden Geweben wird ein Mastermix aus TL-Puffer und DTT empfohlen.

- DTT auf eine Endkonzentration von 40 mM in TL-Puffer verdünnen.
- Vor der Anwendung 40 µl 1 M DTT pro 1 ml TL-Puffer hinzufügen.
- Nur die unmittelbar benötigte Menge an TL-Puffer-/DTT-Mastermix vorbereiten.

3. Zu jeder Probe 20 µl Proteinase-K-Lösung hinzufügen. Zum Mischen vortexen.

4. Bei 55 °C im Schüttelwasserbad inkubieren.

Hinweis: Wenn ein Schüttelwasserbad nicht verfügbar ist, Probe alle 20 bis 30 Minuten vortexen. Die Lysedauer hängt von der Menge und Art des Gewebes ab, beträgt aber normalerweise weniger als 3 Stunden. Die Lyse kann über Nacht erfolgen.

Optional: 5 µl RNase A zu jeder Probe hinzugeben. Zum Mischen vortexen. Zwei Minuten lang bei Raumtemperatur stehenlassen.

5. Bei maximaler Geschwindigkeit ($\geq 4000\text{ g}$) 5 Minuten lang zentrifugieren, um unverdaute Geweberückstände zu pelletieren.
6. Vorsichtig 200 µl des Überstands auf eine neue 96-Well-Deep-Well-Platte überführen, ohne das Pellet zu zerstören.
7. Zu jeder Probe 230 µl AL-Puffer hinzugeben. Zum Mischen 10 Minuten lang vortexen. Gutes Mischen ist ausschlaggebend für eine gute Ausbeute.

Hinweis:

- Für beste Ausbeuten wird bei automatisierten Protokollen das Mischen mit Pipettenspitzen empfohlen.
- Wenn konstantes Vortexen für 10 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 10 Minuten alle 2 Minuten 30 Sekunden lang vortexen.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

8. Zu jeder Probe 320 µl HDQ-Bindungspuffer und 20 µl Mag-Bind® Particles HDQ hinzugeben. Zum Mischen 10 Minuten lang vortexen.

Hinweis:

- Der HDQ-Bindungspuffer muss vor der Verwendung mit Isopropanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5. HDQ-Bindungspuffer und Mag-Bind® Particles HDQ können vor der Anwendung als Mastermix vorbereitet werden. Nur die für den jeweiligen Lauf benötigte Menge zubereiten.
- Wenn konstantes Vortexen für 10 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 10 Minuten alle 2 Minuten 30 Sekunden lang vortexen.

9. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
10. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
11. Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
12. Zu jeder Probe 600 µl VHB-Puffer hinzugeben.

Hinweis: Der VHB-Puffer muss vor der Verwendung mit Ethanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5.

13. Zum Mischen 15 Sekunden lang vortexen.

Hinweis: Vollständiges Resuspendieren der Mag-Bind® Particles HDQ ist wichtig, um eine gute Reinheit zu erzielen.

14. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
15. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
16. Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

17. Schritte 12 bis 16 für einen zweiten Schritt mit VHB-Puffer wiederholen.

18. Zu jeder Probe 600 µl SPM-Puffer hinzugeben.

Hinweis: Der SPM-Puffer muss vor der Verwendung mit Ethanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5.

19. Zum Mischen 15 Sekunden lang vortexen.

20. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.

21. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.

22. Ethanol mit einem der folgenden Schritte entfernen:

A. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung belassen. 500 µl Nuklease-freies Wasser (nicht mitgeliefert) hinzufügen, 20 bis 30 Sekunden lang auf dem Magneten belassen und dann abpipettieren. Das Nuklease-freie Wasser nicht länger als 60 Sekunden lang auf den Mag-Bind® Particles HDQ belassen. Mit Schritt 23 fortfahren.

ODER

B. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung belassen. Eine Minute lang warten. Die restliche Flüssigkeit mit einer Pipette entfernen. Die Mag-Bind® Particles HDQ weitere 10 Minuten lang trocknen. Mit Schritt 23 fortfahren.

23. Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.

24. 100 µl bis 200 µl Elutionspuffer oder Nuklease-freies Wasser hinzufügen, um die DNA von den Mag-Bind® Particles HDQ zu eluieren.

Hinweis: Zur Verbesserung der Ausbeute den Elutionspuffer oder das Nuklease-freie Wasser auf 70 °C erhitzen.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

25. Zum Mischen 5 Minuten lang vortexen.

Hinweis: Wenn konstantes Vortexen für 5 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 5 Minuten alle 1 bis 2 Minuten 15 Sekunden lang vortexen.

26. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
27. Den klaren Überstand, der aufgereinigte DNA enthält, auf eine 96-Well-Mikroplatte (nicht mitgeliefert) übertragen. DNA bei -20 °C aufbewahren.

Protokoll für kultivierte Zellen

Dieses Protokoll ist für die schnelle Isolierung von bis zu 25 µg genomischer DNA aus 5×10^6 kultivierten Zellen ausgelegt.

Wichtig: Wenn Sie dieses Verfahren auf einem Liquid Handler oder einem Magnetprozessor automatisieren möchten, lassen Sie sich bitte von Ihrem Omega Bio-tek-Vertreter gerätespezifische Anweisungen geben.

Durch den Anwender bereitzustellende Materialien und Geräte:

- Gerät zur magnetischen Auftrennung (empfohlen Alpaqua Magnum™ EX, Produktnummer A000380)
- Vortexer
- Zentrifuge mit Ausschwingrotor, die 4000 g erreicht
- Schüttelwasserbad, das 55 °C erreicht
- 96-Well-Mikroplatte (500 µl) oder gewünschte Elutionsplatte
- 96-Well-Deep-Well-Platten mit einem Volumen von 2 ml (empfohlen Nunc, Produktnummer 278752) oder gewünschte, mit dem Gerät zur magnetischen Auftrennung kompatible Platte
- Mehrkanalpipetten und Reagenzienreservoirs
- Kalte PBS (4 °C)
- Ethanol 100 %
- Isopropanol 100 %
- Nuklease-freies Wasser
- Optional: RNase A (10 mg/ml)
- Optional: Heizblock, Inkubator oder Wasserbad, die 70 °C erreichen
- Optional: Trypsin und Zellschaber

Vor Beginn:

- Den SPM-Puffer, VHB-Puffer und den HDQ-Bindungspuffer gemäß Abschnitt „Vorbereitung der Reagenzien“ auf Seite 5 vorbereiten.
- Ein Schüttelwasserbad auf 55 °C vorheizen.
- Optional: Heizblock, Inkubator oder Wasserbad auf 70 °C vorheizen.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

1. Die Zellsuspension vorbereiten.
 - 1a. Gefrorene Zellproben vor Beginn dieses Protokolls auftauen. Zellen durch Zentrifugation pelletieren. Die Zellen mit kalter PBS (4 °C) waschen und in 180 µl kalter PBS resuspendieren. Mit Schritt 2 des Protokolls fortfahren.
 - 1b. Zellen, die in Suspension gewachsen sind, mit einer Menge von jeweils 5×10^6 Zellen durch Zentrifugation bei 1200 g in einem Zentrifugenröhrchen pelletieren. Den Überstand entsorgen, die Zellen mit kalter PBS (4 °C) waschen und in 180 µl kalter PBS resuspendieren. Mit Schritt 2 des Protokolls fortfahren.
 - 1c. Zellen, die in einer Monoschicht gewachsen sind, entweder durch eine Trypsin-Behandlung oder mit einem Zellschaber ernten. Die Zellen zweimal mit kalter PBS (4 °C) waschen und in 180 µl kalter PBS resuspendieren. Mit Schritt 2 des Protokolls fortfahren.
2. Den Mastermix aus AL-Puffer und Proteinase-K-Lösung nur für die zu extrahierenden Proben gemäß der folgenden Tabelle vorbereiten:

Komponente	Menge pro Probe	Gesamtmenge pro 96-Well-Platte
AL-Puffer	230 µl	24,3 ml*
Proteinase-K-Lösung	20 µl	2,1 ml*

* Ein Überschussvolumen von 10 % wurde für eine 96-Well-Platte berechnet.

Wichtig: Nur die Menge an Mastermix aus AL-Puffer/Proteinase-K-Lösung vorbereiten, die innerhalb von 4 Stunden aufgebraucht wird.

3. Zu jeder Probe 250 µl Mastermix aus AL-Puffer/Proteinase-K-Lösung hinzugeben. Zum Mischen 10 Minuten lang vortexen. Gutes Mischen ist ausschlaggebend für eine gute Ausbeute.

Hinweis:

- Für beste Ausbeuten wird bei automatisierten Protokollen das Mischen mit Pipettenspitzen empfohlen.
- Wenn konstantes Vortexen für 10 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 10 Minuten alle 2 Minuten 30 Sekunden lang vortexen.

4. Bei 55 °C 10 Minuten lang im Schüttelwasserbad inkubieren.

Hinweis: Wenn ein Schüttelwasserbad nicht verfügbar ist, Probe alle 2 bis 3 Minuten vortexen.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

- Die Proben auf eine 96-Well-Deep-Well-Platte übertragen (nicht mitgeliefert).

Optional: 5 µl RNase A zu jeder Probe hinzugeben. Zum Mischen vortexen. Zwei Minuten lang bei Raumtemperatur stehenlassen.

- Zu jeder Probe 320 µl HDQ-Bindungspuffer und 20 µl Mag-Bind® Particles HDQ hinzugeben. Zum Mischen 10 Minuten lang vortexen.

Hinweis:

- Der HDQ-Bindungspuffer muss vor der Verwendung mit Isopropanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5. HDQ-Bindungspuffer und Mag-Bind® Particles HDQ können vor der Anwendung als Mastermix vorbereitet werden. Nur die für den jeweiligen Lauf benötigte Menge zubereiten.
- Wenn konstantes Vortexen für 10 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 10 Minuten alle 2 Minuten 30 Sekunden lang vortexen.

- Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
- Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
- Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
- Zu jeder Probe 600 µl VHB-Puffer hinzugeben.

Hinweis: Der VHB-Puffer muss vor der Verwendung mit Ethanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5.

- Zum Mischen 15 Sekunden lang vortexen.

Hinweis: Vollständiges Resuspendieren der Mag-Bind® Particles HDQ ist wichtig, um eine gute Reinheit zu erzielen.

- Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

13. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
14. Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
15. Schritte 10 bis 14 für einen zweiten Schritt mit VHB-Puffer wiederholen.

16. Zu jeder Probe 600 µl SPM-Puffer hinzugeben.

Hinweis: Der SPM-Puffer muss vor der Verwendung mit Ethanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5.

17. Zum Mischen 15 Sekunden lang vortexen.
18. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
19. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
20. Ethanol mit einem der folgenden Schritte entfernen:
 - A. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung belassen. 500 µl Nuklease-freies Wasser (nicht mitgeliefert) hinzufügen, 20 bis 30 Sekunden lang auf dem Magneten belassen und dann abpipettieren. Das Nuklease-freie Wasser nicht länger als 60 Sekunden lang auf den Mag-Bind® Particles HDQ belassen. Mit Schritt 21 fortfahren.

ODER

- B. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung belassen. Eine Minute lang warten. Die restliche Flüssigkeit mit einer Pipette entfernen. Die Mag-Bind® Particles HDQ weitere 10 Minuten lang trocknen. Mit Schritt 21 fortfahren.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

21. Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
22. 50 µl bis 200 µl Elutionspuffer oder Nuklease-freies Wasser hinzufügen, um die DNA von den Mag-Bind® Particles HDQ zu eluieren.

Hinweis: Zur Verbesserung der Ausbeute den Elutionspuffer oder das Nuklease-freie Wasser auf 70 °C erhitzen.

23. Zum Mischen 5 Minuten lang vortexen.

Hinweis: Wenn konstantes Vortexen für 5 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 5 Minuten alle 1 bis 2 Minuten 15 Sekunden lang vortexen.

24. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
25. Den klaren Überstand, der aufgereinigte DNA enthält, auf eine 96-Well-Mikroplatte (nicht mitgeliefert) übertragen. DNA bei -20 °C aufbewahren.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

Protokoll für Speichelproben

Wichtig: Wenn Sie dieses Verfahren auf einem Liquid Handler oder einem Magnetprozessor automatisieren möchten, lassen Sie sich bitte von Ihrem Omega Bio-tek-Vertreter gerätespezifische Anweisungen geben.

Durch den Anwender bereitzustellende Materialien und Geräte:

- Gerät zur magnetischen Auftrennung (empfohlen Alpaqua Magnum™ EX, Produktnummer A000380)
- Vortexer
- Schüttelwasserbad, das 55 °C erreicht
- 96-Well-Mikroplatte (500 µl) oder gewünschte Elutionsplatte
- 96-Well-Deep-Well-Platten mit einem Volumen von 2 ml (empfohlen Nunc, Produktnummer 278752) oder gewünschte, mit dem Gerät zur magnetischen Auftrennung kompatible Platte
- Mehrkanalpipetten und Reagenzienreservoirs
- Ethanol 100 %
- Isopropanol 100 %
- Nuklease-freies Wasser
- Optional: RNase A (10 mg/ml)
- Optional: Heizblock, Inkubator oder Wasserbad, die 70 °C erreichen

Vor Beginn:

- Den SPM-Puffer, VHB-Puffer und den HDQ-Bindungspuffer gemäß Abschnitt „Vorbereitung der Reagenzien“ auf Seite 5 vorbereiten.
 - Ein Schüttelwasserbad auf 55 °C vorheizen.
 - Optional: Wasserbad, Inkubator oder Heizblock auf 70 °C vorheizen.
1. Das Röhrchen mit Speichel bei 2000 g 5 Minuten zentrifugieren.
 2. 500 µl stabilisierte Speichelproben (z. B. DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrix® DNAgard® Saliva) auf eine 96-Well-Deep-Well-Platte überführen (nicht mitgeliefert).
 3. Den Mastermix aus AL-Puffer und Proteinase-K-Lösung nur für die zu extrahierenden Proben gemäß der folgenden Tabelle vorbereiten:

Komponente	Menge pro Probe	Gesamtmenge pro 96-Well-Platte
AL-Puffer	200 µl	21,12 ml*
Proteinase-K-Lösung	20 µl	2,1 ml*

* Ein Überschussvolumen von 10 % wurde für eine 96-Well-Platte berechnet.

Wichtig: Nur die Menge an Mastermix aus AL-Puffer/Proteinase-K-Lösung vorbereiten, die innerhalb von 4 Stunden aufgebraucht wird.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

4. Zu jeder Probe 220 µl AL-Puffer-/Proteinase-K-Lösung hinzugeben. Zum Mischen 10 Minuten lang vortexen. Gutes Mischen ist ausschlaggebend für eine gute Ausbeute.

Hinweis:

- Für beste Ausbeuten wird bei automatisierten Protokollen das Mischen mit Pipettenspitzen empfohlen.
- Wenn konstantes Vortexen für 10 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 10 Minuten alle 2 Minuten 30 Sekunden lang vortexen.

5. Bei 55 °C 10 Minuten lang im Schüttelwasserbad inkubieren.

Hinweis: Wenn ein Schüttelwasserbad nicht verfügbar ist, Platte alle 2 bis 3 Minuten vortexen. Wenn ein DNA Genotek Oragene® Röhrchen verwendet und der Inkubationsschritt bereits durchgeführt wurde, mit Schritt 6 fortfahren.

Optional: 5 µl RNase A zu jeder Probe hinzugeben. Zum Mischen vortexen. Zwei Minuten lang bei Raumtemperatur stehenlassen.

6. Zu jeder Probe 400 µl HDQ-Bindungspuffer und 20 µl Mag-Bind® Particles HDQ hinzugeben. Zum Mischen 10 Minuten lang vortexen.

Hinweis:

- Der HDQ-Bindungspuffer muss vor der Verwendung mit Isopropanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5. HDQ-Bindungspuffer und Mag-Bind® Particles HDQ können vor der Anwendung als Mastermix vorbereitet werden. Nur die für den jeweiligen Lauf benötigte Menge zubereiten.
- Wenn konstantes Vortexen für 10 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 10 Minuten alle 2 Minuten 30 Sekunden lang vortexen.

7. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
8. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
9. Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
10. Zu jeder Probe 600 µl VHB-Puffer hinzugeben.

Hinweis: Der VHB-Puffer muss vor der Verwendung mit Ethanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

11. Zum Mischen 15 Sekunden lang vortexen.

Hinweis: Vollständiges Resuspendieren der Mag-Bind® Particles HDQ ist wichtig, um eine gute Reinheit zu erzielen.

12. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
13. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
14. Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
15. Schritte 10 bis 14 für einen zweiten Schritt mit VHB-Puffer wiederholen.
16. Zu jeder Probe 600 µl SPM-Puffer hinzugeben.

Hinweis: Der SPM-Puffer muss vor der Verwendung mit Ethanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5.

17. Zum Mischen 15 Sekunden lang vortexen.
18. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
19. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

20. Ethanol mit einem der folgenden Schritte entfernen:

- A. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung belassen. 500 µl Nuklease-freies Wasser (nicht mitgeliefert) hinzufügen, 20 bis 30 Sekunden lang auf dem Magneten belassen und dann abpipettieren. Das Nuklease-freie Wasser nicht länger als 60 Sekunden lang auf den Mag-Bind® Particles HDQ belassen. Mit Schritt 21 fortfahren.

ODER

- B. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung belassen. Eine Minute lang warten. Die restliche Flüssigkeit mit einer Pipette entfernen. Die Mag-Bind® Particles HDQ weitere 10 Minuten lang trocknen. Mit Schritt 21 fortfahren.

21. 100 µl bis 200 µl Elutionspuffer oder Nuklease-freies Wasser hinzufügen, um die DNA von den Mag-Bind® Particles HDQ zu eluieren.

Hinweis: Zur Verbesserung der Ausbeute den Elutionspuffer oder das Nuklease-freie Wasser auf 70 °C erhitzen.

22. Zum Mischen 5 Minuten lang vortexen.

Hinweis: Wenn konstantes Vortexen für 5 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 5 Minuten alle 1 bis 2 Minuten 15 Sekunden lang vortexen.

23. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.

24. Den klaren Überstand, der aufgereinigte DNA enthält, auf eine 96-Well-Mikroplatte (nicht mitgeliefert) übertragen. DNA bei -20 °C aufbewahren.

Protokoll für Wangenabstriche

Wichtig: Wenn Sie dieses Verfahren auf einem Liquid Handler oder einem Magnetprozessor automatisieren möchten, lassen Sie sich bitte von Ihrem Omega Bio-tek-Vertreter gerätespezifische Anweisungen geben.

Durch den Anwender bereitzustellende Materialien und Geräte:

- Gerät zur magnetischen Auftrennung (empfohlen Alpaqua Magnum™ EX, Produktnummer A000380)
- Vortexer
- Zentrifuge mit Ausschwingrotor, die 4000 g erreicht
- Zentrifugenadapter für 96-Well-Platten
- Schüttelwasserbad, das 55 °C erreicht
- 96-Well-Mikroplatte (500 µl) oder gewünschte Elutionsplatte
- 96-Well-Deep-Well-Platten mit einem Volumen von 2 ml (empfohlen Nunc, Produktnummer 278752) oder gewünschte, mit dem Gerät zur magnetischen Auftrennung kompatible Platte
- Mehrkanalpipetten und Reagenzienreservoirs
- Ethanol 100 %
- Isopropanol 100 %
- Optional: RNase A (10 mg/ml)
- Optional: Nuklease-freies Wasser
- Optional: Heizblock, Inkubator oder Wasserbad, die 70 °C erreichen

Vor Beginn:

- Den SPM-Puffer, VHB-Puffer und den HDQ-Bindungspuffer gemäß Abschnitt „Vorbereitung der Reagenzien“ auf Seite 5 vorbereiten.
 - Ein Schüttelwasserbad auf 55 °C vorheizen.
 - Optional: Wasserbad, Inkubator oder Heizblock auf 70 °C vorheizen.
1. Die Abstrichbürste oder den Tupferkopf abschneiden und in eine 96-Well-Deep-Well-Platte (nicht mitgeliefert) geben.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

2. Den Mastermix aus AL-Puffer, Proteinase-K-Lösung und Elutionspuffer nur für die zu extrahierenden Proben gemäß der folgenden Tabelle vorbereiten:

Komponente	Menge pro Probe	Gesamtmenge pro 96-Well-Platte
AL-Puffer	290 µl	30,6 ml*
Proteinase-K-Lösung	20 µl	2,1 ml*
Elutionspuffer	250 µl	26,4 ml

* Ein Überschussvolumen von 10 % wurde für eine 96-Well-Platte berechnet.

Wichtig: Nur die Menge an Mastermix aus AL-Puffer/Proteinase-K-Lösung/Elutionspuffer vorbereiten, die innerhalb von 4 Stunden aufgebraucht wird.

3. Zu jeder Probe 560 µl Mastermix aus AL-Puffer/Proteinase-K-Lösung/Elutionspuffer hinzugeben. Durch Vortexen oder 20-maliges Auf- und Abpipettieren durchmischen.

Hinweis: Für beste Ausbeuten wird bei automatisierten Protokollen das Mischen mit Pipettenspitzen empfohlen.

4. Bei 55 °C 10 Minuten lang im Schüttelwasserbad inkubieren.

Hinweis: Wenn ein Schüttelwasserbad nicht verfügbar ist, Platte alle 2 bis 3 Minuten lang vortexen.

5. Bei 3000 g 2 Minuten lang zentrifugieren.

6. 500 µl Lysat auf eine neue 96-Well-Deep-Well-Platte überführen. Die Tupfer nicht auf die neue Platte überführen.

Optional: 5 µl RNase A zu jeder Probe hinzugeben. Zum Mischen vortexen. Zwei Minuten lang bei Raumtemperatur stehenlassen.

7. Zu jeder Probe 350 µl HDQ-Bindungspuffer und 20 µl Mag-Bind® Particles HDQ hinzugeben. Zum Mischen 10 Minuten lang vortexen.

Hinweis:

- Der HDQ-Bindungspuffer muss vor der Verwendung mit Isopropanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5. HDQ-Bindungspuffer und Mag-Bind® Particles HDQ können vor der Anwendung als Mastermix vorbereitet werden. Nur die für den jeweiligen Lauf benötigte Menge zubereiten.
- Wenn konstantes Vortexen für 10 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 10 Minuten alle 2 Minuten 30 Sekunden lang vortexen.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

8. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
9. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
10. Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
11. Zu jeder Probe 600 µl VHB-Puffer hinzugeben.

Hinweis: Der VHB-Puffer muss vor der Verwendung mit Ethanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5.

12. Zum Mischen 15 Sekunden lang vortexen.

Hinweis: Vollständiges Resuspendieren der Mag-Bind® Particles HDQ ist wichtig, um eine gute Reinheit zu erzielen.

13. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
14. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
15. Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
16. Schritte 11 bis 15 für einen zweiten Schritt mit VHB-Puffer wiederholen.
17. Zu jeder Probe 600 µl SPM-Puffer hinzugeben.

Hinweis: Der SPM-Puffer muss vor der Verwendung mit Ethanol 100 % verdünnt werden. Anweisungen finden Sie auf Seite 5.

Mag-Bind® Blood & Tissue DNA Kit CE IVD

18. Zum Mischen 15 Sekunden lang vortexen.
19. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
20. Den geklärten Überstand abpipettieren und entsorgen. Die Mag-Bind® Particles HDQ nicht stören.
21. Die Platte für 10 Minuten lang auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung belassen, um die Mag-Bind® Particles HDQ an der Luft zu trocknen. Restliche Flüssigkeit aus den Vertiefungen entfernen.

Hinweis: Jegliche Flüssigkeit muss in diesem Schritt aufgezogen werden. Es empfiehlt sich, Flüssigkeit zu entfernen, eine Minute lang zu warten und dann jegliche Restflüssigkeit zu entfernen.

22. Die Platte mit den Mag-Bind® Particles HDQ vom Gerät zur magnetischen Auftrennung nehmen.
23. 100 µl bis 200 µl Elutionspuffer oder Nuklease-freies Wasser (nicht mitgeliefert) hinzufügen, um die DNA von den Mag-Bind® Particles HDQ zu eluieren.

Hinweis: Zur Verbesserung der Ausbeute den Elutionspuffer oder das Nuklease-freie Wasser auf 70 °C erhitzen.


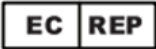

24. Zum Mischen 5 Minuten lang vortexen.

Hinweis: Wenn konstantes Vortexen für 5 Minuten nicht möglich ist, über einen Zeitraum von 5 Minuten alle 1 bis 2 Minuten 15 Sekunden lang vortexen.

25. Die Platte auf dem Gerät zur magnetischen Auftrennung platzieren, um die Mag-Bind® Particles HDQ zu magnetisieren. Bei Raumtemperatur stehen lassen, bis alle Mag-Bind® Particles HDQ aus der Lösung entfernt sind.
26. Den klaren Überstand, der aufgereinigte DNA enthält, auf eine 96-Well-Mikroplatte (nicht mitgeliefert) übertragen. DNA bei -20 °C aufbewahren.



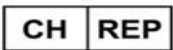
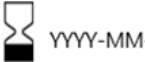










Kontaktinformationen

Zur Nachbestellung von Materialien oder zur Meldung eines Geräteausfalls oder einer Beschwerde wenden Sie sich bitte an:

	Hersteller Omega Bio-tek, Inc. 400 Pinnacle Way Suite #450 Norcross, GA 30071, USA Webseite: www.omegabiotek.com E-Mail: info@omegabiotek.com SRN: US-MF-000024148
	Bevollmächtigter Vertreter für Europa Qarad EC-REP BV Pas 257 2440 Geel Belgium SRN: BE-AR-000000040
	Vertretungsberechtigter Vertreter der Schweiz Qarad Suisse S.A. World Trade Center Avenue Gratta-Paille 2 1018 Lausanne Switzerland CHRN: CHRN-AR-20002058

Symbole

Die folgenden Symbole können in der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Kennzeichnung erscheinen:

Bild	Beschreibung
	Beschädigte Verpackung (Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist)
	Bevollmächtigter Vertreter für die EU
	Vertretungsberechtigter Vertreter der Schweiz
	Verfallsdatum
	Temperaturbereich für die Langzeitlagerung
	Lagerungsbedingungen für die Komponenten prüfen
	Chargennummer
	Referenz-, Teile- oder Katalognummer
	Seriennummer
	Menge
	Vorsicht
	Gebrauchsanweisung
	Regulatorische Markierung
	Medizinisches Gerät für die In-vitro-Diagnostik

Symbole



Eindeutige Gerätekennung



Hersteller



Keine zusätzlichen Gefahren oder nicht als gefährlich eingestuft gemäß GHS



Webseite



Telefonnummer



Faxnummer



E-Mail



Linked-In



Twitter



Facebook

Revisionsverlauf

Revision	Beschreibung
v1.2, Juli 2023	Informationen zum Bevollmächtigten der Schweiz hinzugefügt
v1.1, Dezember 2022	Überarbeitet basierend auf Kommentaren des autorisierten Vertreters zur Verdeutlichung.
v1.0, Juni 2022	Erste Veröffentlichung

Hinweise und Haftungsausschlüsse

REACH-Offenlegung

Für die Verwendung in der Europäischen Union.

AL-Puffer enthält Triton X-100, 2-[4-(2,4,4-Trimethylpentan-2-yl)phenoxy]ethanol (CAS 9002-93-1), ein Stoff, der in der europäischen Zulassungsliste (Anhang XIV) der REACH-Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 aufgeführt ist. Stoffe und Gemische, die für die wissenschaftliche Forschung und Entwicklung (SR&D) eingesetzt werden, sind bei Verwendung von unter 1 Tonne pro Jahr von der Zulassungspflicht ausgenommen.

Wissenschaftliche Forschung und Entwicklung umfasst experimentelle Forschungs- oder Analysetätigkeiten im Labormaßstab, wie z. B. die Synthese und Prüfung von Anwendungen chemischer Stoffe, Freisetzungstests usw. sowie die Verwendung des Stoffes zur Überwachung und routinemäßigen Qualitätskontrolle oder In-vitro-Diagnostik.

Marken und Lizenzen

Mag-Bind®, HiBind®, E.Z.N.A.® und MicroElute® sind eingetragene Warenzeichen von Omega Bio-tek, Inc.

DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrica® DNAgard® Saliva sind Warenzeichen der jeweiligen Unternehmen.

PCR ist ein patentiertes Verfahren von Hoffman-La Roche. Der Einsatz des PCR-Verfahrens erfordert eine Lizenz.