omega BIO-TEK
innovations in nucleic acid isolation

Manuale del prodotto

Kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD

Prodotto	Preparazioni
M6399-01CEIVD	4 x 96 preparazioni

Data del manuale: Giugno 2026
Numero di revisione: v1.3

IVD

Per l'uso diagnostico in vitro

CE

Omega Bio-tek, Inc.
400 Pinnacle Way, Suite 450
Norcross, GA 30071
www.omegabiotek.com

+1-770-931-8400
+1-770-931-0230
info@omegabiotek.com

omega-bio-tek
omegabiotek
omegabiotek

Kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD

Indice

Destinazione d'uso e utilizzatori previsti....2
Descrizione del prodotto....3
Contenuto del kit....4
Conservazione e stabilità....4
Dispositivi per separazione magnetica e strumenti in plastica....4
Preparazione dei reagenti....5
Controllo di qualità....6
Avvertenze/Informazioni di sicurezza....6
Precauzioni....7
Limitazioni....9
Protocollo per sangue....10
Protocollo per tessuti....14
Protocollo per cellule coltivate....19
Protocollo per saliva....24
Protocollo per tamponi buccali....28
Contatti....32
Simboli....33
Cronologia delle revisioni....35
Avvisi ed esclusioni di garanzia....36

Data del manuale: Giugno 2026
Numero di revisione: v1.3

omega BIO-TEK
innovations in nucleic acid isolation

Uso previsto

Per l'uso diagnostico in vitro.

Il kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD è progettato per l'isolamento e la purificazione di DNA genomico da tessuti e cellule coltivate usando materiale fresco o congelato, fino a 250 µl di sangue intero, tamponi buccali, fino a 500 µl di saliva e macchie di sangue secco.

Il kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD utilizza una tecnologia a base di particelle magnetiche e può essere processato manualmente o in maniera automatica sulla maggior parte delle piattaforme di manipolazione dei liquidi aperte e dei processori magnetici.

Utilizzatori previsti

Questo kit è inteso per l'uso professionale.

Il kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD è progettato per l'uso in vitro e per essere utilizzato da professionisti quali personale di laboratorio, tecnici, ricercatori e medici con formazione speficica in tecniche di biologia molecolare ed esperti nella purificazione con particelle magnetiche, sia manuale che automatica.

Descrizione del prodotto

Il kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD fornisce un metodo versatile per l'isolamento di DNA di alta qualità da un'ampia gamma di campioni, tra cui tessuti e cellule coltivate di animali usando materiali freschi o congelati, fino a 250 µl di sangue intero, tamponi buccali, fino a 500 µl di saliva e macchie di sangue secco. Le particelle Mag-Bind® Particles HDQ forniscono un rapido tempo di risposta magnetica riducendo il tempo complessivo di elaborazione. Questo sistema combina le proprietà di legame reversibile con l'acido nucleico delle particelle paramagnetiche Mag-Bind® con l'efficienza collaudata nel tempo della composizione chimica dei tamponi Omega Bio-tek, fornendo un metodo rapido e conveniente per isolare il DNA da una varietà di campioni. La procedura di purificazione fornisce DNA di alta qualità adatto per l'uso diretto nella maggior parte delle applicazioni a valle, come l'amplificazione, il sequenziamento in parallelo e le reazioni enzimatiche.

Se si utilizza il kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD per la prima volta, leggere integralmente il presente opuscolo per familiarizzare con le procedure. I campioni vengono lisati in sistemi tampone calibrati specificamente per ogni tipo di materiale di partenza. Dopo il processo di lisi, i campioni vengono miscelati con il tampone di legame HDQ e le particelle Mag-Bind® Particles HDQ per permettere al DNA di legarsi alle particelle magnetiche. Viene utilizzato un dispositivo di separazione magnetica per separare le particelle paramagnetiche dai lisati. Dopo alcuni brevi lavaggi per rimuovere le tracce di contaminanti, il DNA viene eluito in un tampone di eluizione.

Una revisione dei metodi per l'isolamento e la purificazione del DNA/RNA è fornita nella seguente letteratura di riferimento[1,2].

Importante:

1. se questa procedura viene eseguita in modo automatico su un manipolatore di liquidi o un processore magnetico, contattare il rappresentante Omega Bio-tek di zona per istruzioni specifiche sullo strumento.

2. i kit comprendono reagenti sufficienti per il numero specificato di preparazioni, più un ulteriore 10% per garantire tutto il volume necessario. Si tenga presente che il numero effettivo di preparazioni potrebbe essere inferiore a causa della prealiquotazione dei reagenti, dell'elaborazione delle piastre parziali, della piattaforma di automazione usata, ecc.

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.

Contenuto del kit

Prodotto	M6399-01CEIVD
Purificazione	4 x 96
Tampone AL	125 ml
Tampone TL	120 ml
Tampone di legame HDQ	40 ml
Tampone VHB	230 ml
Tampone SPM	150 ml
Tampone di eluizione	250 ml
Soluzione a base di proteinasi K	9 ml
Particelle Mag-Bind® Particles HDQ	9 ml

Conservazione e stabilità

Tutti i componenti del kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD sono garantiti per almeno 12 mesi dalla data di acquisto se conservati alle seguenti condizioni. La soluzione a base di proteinasi K può essere conservata a temperatura ambiente per un massimo di 12 mesi. Per la conservazione a lungo termine, mantenere la soluzione a base di proteinasi K a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Conservare tutti gli altri componenti alle temperature raccomandate, indicate sull'etichetta del flaconcino. Dopo aver aperto il prodotto, conservarlo secondo le istruzioni riportate sull'etichetta. Assicurarsi di serrare bene i cappucci dopo ogni utilizzo. Durante la spedizione o la conservazione in ambienti freschi, in alcuni tamponi potrebbero formarsi dei precipitati. Tali depositi possono essere sciolti riscaldando la soluzione a 37 °C e agitandola delicatamente.

Dispositivi per la separazione magnetica e strumenti in plastica

Sebbene il kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD sia compatibile con i dispositivi per la separazione magnetica di diversi marchi, si raccomanda l'uso delle piastre magnetiche universali Magnum™ EX di Alpaqua (codice articolo A000380) insieme alle piastre Nunc DeepWell™ da 2 ml (codice articolo 278752). Questa combinazione offre tempi di magnetizzazione rapidi, solo 1 minuto per la magnetizzazione completa durante le fasi di lavaggio e 5 minuti per le fasi di rimozione del lisato.

Qualunque sia il dispositivo per la separazione magnetica scelto, verificarne la compatibilità con gli strumenti in plastica necessari per questo kit.

Preparazione dei reagenti

1. Diluire il Tampone SPM con 350 ml di alcol etilico al 100% e conservare a temperatura ambiente.

2. Preparare il Tampone VHB con 290 ml di alcol etilico al 100% e conservare a temperatura ambiente.

3. Preparare il Tampone di legame HDQ con 160 ml di isopropanolo al 100% e conservare a temperatura ambiente.

4. Prima dell'uso, agitare o passare al Vortex le particelle Mag-Bind® Particles HDQ per risospenderle completamente. Le particelle devono essere completamente in sospensione durante l'uso per garantire un legame corretto.

Controllo di qualità

In conformità al Sistema di gestione della qualità certificato ISO di Omega Bio-tek, tutti i reagenti del kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD sono sottoposti a test di routine in base a specifiche predeterminate lotto per lotto al fine di garantire prestazioni affidabili e coerenza nella qualità del prodotto.

Avvertenze

Questo kit è destinato all'uso diagnostico in vitro.

Leggere attentamente tutte le istruzioni prima di utilizzare il kit.

Decontaminare e smaltire tutti i materiali potenzialmente infettivi in conformità alle normative locali, statali ed europee vigenti. I clienti residenti all'interno dell'Unione europea sono tenuti a segnalare gli incidenti gravi avvenuti in relazione al dispositivo al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiede l'utilizzatore e/o il paziente. Per assistenza contattare Omega Bio-tek all'indirizzo info@omegabiotek.com.

Se questo kit viene utilizzato secondo un flusso di lavoro che prevede l'estrazione automatica, la superficie della piattaforma automatica è considerata un rischio biologico. Utilizzare metodi di decontaminazione e smaltimento appropriati in conformità a tutte le normative statali/provinciali locali e/o nazionali vigenti.

Informazioni di sicurezza

Tutti i prodotti chimici e i materiali biologici sono potenzialmente pericolosi.

I campioni biologici quali plasma, siero, tessuti, liquidi corporei, sangue, ecc., sono potenzialmente infettivi e devono essere trattati come materiali a rischio biologico. Tutte le procedure di lavoro devono essere svolte in strutture adeguatamente attrezzate seguendo le precauzioni universali e usando dispositivi di protezione individuale adeguati come guanti monouso, camici da laboratorio, occhiali protettivi, ecc., come predisposto dalle politiche e procedure stabilite dalla struttura di riferimento.

Per informazioni su come manipolare, trasportare e smaltire in sicurezza i vari reagenti inclusi in questo kit, fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS). Le schede di sicurezza sono disponibili in formato PDF alla pagina dei prodotti su www.omegabiotek.com. Gettare tutti i rifiuti in conformità alle normative di sicurezza locali.

Precauzioni

Alcuni dei tamponi inclusi nel kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD contengono agenti caotropici a base di guanidina che possono formare composti altamente reattivi in combinazione con la candeggina. **NON aggiungere candeggina o soluzioni acide** ai rifiuti della preparazione dei campioni contenenti guanidina. Consultare le schede di sicurezza online per informazioni dettagliate sui reagenti.

Componente	Descrizione
Tampone AL	Contiene: Guanidina cloridrato. Avvertimento! Provoca grave irritazione oculare. Provoca irritazione cutanea. Nocivo se ingerito. Non mangiare, bere o fumare durante l'utilizzo di questo prodotto. Lavare accuratamente tutte le aree esterne del corpo esposte dopo la manipolazione. Indossare guanti protettivi, indumenti protettivi, protezione per gli occhi e protezione per il viso. NEGLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per diversi minuti. Rimuovere le lenti a contatto, se presenti e facili da fare. Continua a sciacquare. Rivolgersi a un medico/ attenzioni se l'irritazione oculare persiste. Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima del riutilizzo. SULLA PELLE: Lavare abbondantemente con acqua e sapone. Rivolgersi a un medico/ attenzioni in caso di irritazione cutanea o eruzione cutanea. INGESTIONE: Sciacquare la bocca. Chiama un centro antiveleni o un dottore/medico se non ti senti bene.
Tampone TL	Contiene: detergente anionico. Avvertenza! Causa grave irritazione oculare. Può causare una reazione allergica cutanea. Evitare di respirare la nebbia/i vapori/gli aerosol. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Rimuovere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Se l'irritazione oculare persiste consultare un medico. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. In caso di irritazione o eruzione cutanea consultare un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.
Soluzione a base di proteinasi K	Contiene: proteinasi K. Pericolo! Causa lieve irritazione cutanea. Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato. Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Indossare un apparecchio di protezione respiratoria. In caso di esposizione o di dubbi: contattare un centro antiveleni o un medico. Trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in una posizione che favorisca la respirazione.

Precauzioni

Componente	Descrizione
Tampone di legame HDQ	Contiene: Perclorato di sodio. Pericolo! Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta. Può causare incendio o esplosione; forte ossidante. Nocivo se ingerito. Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere e altre fonti di accensione. Vietato fumare. Tenere lontano da indumenti e altri materiali combustibili. Non respirare la nebbia/i vapori/gli aerosol. Lavare accuratamente tutte le aree esterne del corpo esposte dopo la manipolazione. Non mangiare, bere o fumare durante l'utilizzo di questo prodotto. Indossare guanti e indumenti protettivi. INGESTIONE: Sciacquare la bocca. Chiama un CENTRO ANTIVELENI/medico/ medico/soccorritore se non ti senti bene. SUGLI ABBIGLIAMENTO: Sciacquare immediatamente gli indumenti e la pelle contaminati con abbondante acqua prima di togliersi gli indumenti. Chiedi consiglio/ attenzione medica se non ti senti bene. In caso di incendio: utilizzare ... per estinguere. In caso di incendio grave e grandi quantità: Evacuare l'area. Combattere il fuoco a distanza a causa del rischio di esplosione
Tampone VHB	Contiene: cloridrato di guanidina. Avvertenza! Causa grave irritazione oculare. Causa irritazione cutanea. Può causare una reazione allergica cutanea. Nocivo se ingerito. Evitare di respirare la nebbia/i vapori/ gli aerosol. Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. In caso di esposizione o di dubbio: contattare un centro antiveleni o un medico. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Rimuovere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Se l'irritazione oculare persiste consultare un medico. Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. In caso di irritazione o eruzione cutanea consultare un medico. IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. In caso di malessere contattare un centro antiveleni o un medico.

Limitazioni

Le prestazioni del kit sono state valutate isolando il DNA genomico da 250 µl di sangue intero, tamponi buccali, 500 ml di saliva conservata e cellule coltivate. Le prestazioni del kit sono state inoltre convalidate mediante valutazione dell'adeguatezza del DNA genomico purificato in un'analisi diretta a valle con metodo di amplificazione standard. L'utilizzatore è responsabile di verificare le caratteristiche prestazionali di eventuali procedure non incluse negli studi di valutazione delle prestazioni di Omega Bio-tek. Inoltre è responsabile di stabilire i parametri di prestazione necessari per l'applicazione diagnostica a valle di preferenza. Devono essere impiegati adeguati e appropriati controlli per ogni applicazione diagnostica a valle che preveda l'uso di DNA genomico purificato con il kit Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD.

Protocollo per il sangue

La procedura riportata di seguito è stata ottimizzata per l'uso con campioni di 250 µl di sangue FRESCO o CONGELATO. Può essere usato anche il buffy-coat.

Importante: se questa procedura viene eseguita in modo automatico su un manipolatore di liquidi o un processore magnetico, contattare il rappresentante Omega Bio-tek di zona per istruzioni specifiche sullo strumento.

Materiali e reagenti che devono essere forniti dall'utilizzatore:

- dispositivo per la separazione magnetica (si consiglia l'uso di Magnum™ EX di Alpaqua, codice articolo A000380)
- agitatore Vortex
- blocco riscaldante, incubatore o bagno termico ad acqua con capacità fino a 70 °C
- micropiastra da 96 pozzetti (500 µl) o piastra di eluizione preferita
- piastra a pozzetti profondi 2 ml, 96 pozzetti (si consiglia l'uso di Nunc, codice articolo 278752) o piastra di preferenza compatibile con il dispositivo per la separazione magnetica
- pipette multicanale e serbatoi di reagente
- alcol etilico al 100%
- isopropanolo al 100%
- acqua priva di nucleasi
- opzionale: RNasi A (10 mg/ml)
- opzionale: PBS

Prima di iniziare:

- Preparare il Tampone SPM, il Tampone VHB e il Tampone di legame HDQ secondo quanto indicato nella sezione "Preparazione dei reagenti" a pagina 5.
- Impostare il blocco riscaldante, l'incubatore o il bagno termico ad acqua a 70 °C.

1. Preparare una mastermix di Tampone AL e Soluzione a base di proteinasi K solo per i campioni da estrarre secondo la tabella seguente:

Componente	Quantità per preparato	Quantità totale per piastra da 96 pozzetti
Tampone AL	290 µl	30,6 ml*
Soluzione a base di proteinasi K	20 µl	2,1 ml*

*Per una piastra da 96 pozzetti è stato calcolato un volume in eccesso del 10%.

Importante: preparare una quantità di mastermix di Tampone AL/Soluzione a base di proteinasi K sufficiente da utilizzare entro 4 ore dalla preparazione.

2. Aggiungere 250 µl di campione di sangue alla piastra a pozzetti profondi 2 ml da 96 pozzetti (non fornita). Se il volume di sangue è inferiore a 250 µl, aumentarlo fino a 250 µl con PBS (non fornito) o con il Tampone di eluizione (incluso in questo kit).

3. Aggiungere una mastermix da 310 ml di Tampone AL/Soluzione a base di proteinasi K a ogni campione. Mescolare agitando al Vortex o pipettando su e giù per 20 volte. Per ottenere un risultato ottimale è fondamentale mescolare correttamente.

   Nota: per i protocolli automatici, si consiglia la miscelazione tramite puntale poiché produce risultati migliori.

4. Incubare a 70 °C per 10 minuti.

Opzionale: aggiungere 5 µl di RNasi A a ogni campione. Mescolare al Vortex. Lasciar riposare a temperatura ambiente per 2 minuti.

5. Aggiungere 400 µl di Tampone di legame HDQ e 20 µl di particelle Mag-Bind® Particles HDQ a ogni campione. Mescolare al Vortex per 10 minuti.

   Nota:
   - Prima dell'uso, diluire il Tampone di legame HDQ con isopropanolo al 100%. Per istruzioni vedere pagina 5. È possibile preparare il tampone di legame HDQ e le particelle Mag-Bind® Particles HDQ come una mastermix. Preparare solo la quantità necessaria per ogni sessione.
   - Se non è possibile agitare al Vortex per 10 minuti continuativamente, agitare al Vortex per 30 secondi ogni 2 minuti per 10 minuti.

6. Collocare la piastra su un dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

7. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

8. Rimuovere la piastra dal dispositivo per la separazione magnetica.

9. Aggiungere 600 µl di Tampone VHB a ogni campione.

   Nota: prima dell'uso, diluire il Tampone VHB con alcol etilico al 100%. Per istruzioni vedere a pagina 5.

10. Mescolare agitando al Vortex per 15 secondi.

    Nota: la risospensione completa delle particelle Mag-Bind® Particles HDQ è di estrema importanza per ottenere una buona purezza.

11. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

12. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

13. Rimuovere la piastra dal dispositivo per la separazione magnetica.

14. Ripetere i punti da 9 a 13 durante la seconda fase del Tampone VHB.

15. Aggiungere 600 µl di Tampone SPM a ogni campione.

    Nota: prima dell'uso, diluire il Tampone SPM con alcol etilico al 100%. Per istruzioni vedere pagina 5.

16. Mescolare agitando al Vortex per 15 secondi.

17. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

18. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

19. Selezionare uno dei seguenti passaggi per la rimozione dell'alcol etilico.

    A. Lasciare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica. Aggiungere 500 µl di acqua priva di nucleasi (non fornita), lasciare sul magnete per 20-30 secondi, quindi aspirare. Non lasciare l'acqua priva di nucleasi sulle particelle Mag-Bind® Particles HDQ per più di 60 secondi. Passare al punto 20.

    OPPURE

    B. Lasciare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica. Attendere 1 minuto. Rimuovere il liquido residuo con un pipettatore. Lasciar asciugare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ per altri 10 minuti. Passare al punto 20.

20. Rimuovere la piastra dal dispositivo per la separazione magnetica.

21. Aggiungere 50-200 µl di Tampone di eluizione o di acqua priva di nucleasi per eluire il DNA dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

    Nota: per migliorare il risultato, riscaldare il Tampone di eluizione o l'acqua priva di nucleasi fino a 70 °C.

22. Mescolare al Vortex per 5 minuti.

    Nota: se non è possibile agitare al Vortex continuativamente per 5 minuti, agitare al Vortex per 15 secondi ogni 1-2 minuti per 5 minuti.

23. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

24. Trasferire il surnatante rimosso contenente il DNA purificato su una micropiastra da 96 pozzetti (non fornita). Conservare il DNA a -20 °C.

Protocollo per tessuti

Questo metodo consente l'isolamento di DNA genomico da una quantità massima di 10 mg di tessuto. I risultati variano in base al tessuto d'origine.

Importante: se questa procedura viene eseguita in modo automatico su un manipolatore di liquidi o un processore magnetico, contattare il rappresentante Omega Bio-tek di zona per istruzioni specifiche sullo strumento.

Materiali e attrezzature che devono essere forniti dall'utilizzatore:

- dispositivo per la separazione magnetica (si consiglia l'uso di Magnum™ EX di Alpaqua, codice articolo A000380)
- agitatore Vortex
- centrifuga con rotore a braccio oscillante con capacità fino a 4.000*g*
- adattatore per centrifuga per piastre da 96 pozzetti
- bagno termostatico ad acqua con agitazione con capacità fino a 55 °C
- micropiastra da 96 pozzetti (500 µl) o piastra di eluizione di preferenza
- piastre a pozzetti profondi 2 ml, 96 pozzetti (si consiglia Nunc, codice articolo 278752) o una piastra di preferenza compatibile con il dispositivo per la separazione magnetica
- pipette multicanale e serbatoi di reagente
- alcol etilico al 100%
- isopropanolo al 100%
- acqua priva di nucleasi
- si consiglia: ditiotreitolo (DTT) 1 M
- opzionale: RNasi A (10 mg/ml)
- opzionale: blocco riscaldante, incubatore o bagno termico ad acqua con capacità fino a 70 °C
- opzionale: azoto liquido, mortaio e pestello

Prima di iniziare:

- Preparare il Tampone SPM, il Tampone VHB e il Tampone di legame HDQ secondo quanto indicato nella sezione "Preparazione dei reagenti" a pagina 5.
- Impostare il bagno termico ad acqua a 55 °C.
- Opzionale: impostare il bagno termico ad acqua, l'incubatore o il blocco riscaldante a 70 °C.
- Consigliato: aggiungere 40 µl di DTT 1 M per 1 ml di Tampone TL prima dell'uso.

OPZIONALE: sebbene non sia necessaria l'omogenizzazione meccanica del tessuto, la polverizzazione dei campioni in azoto liquido migliora la lisi e riduce il tempo d'incubazione. Una volta evaporato l'azoto liquido, trasferire il tessuto in polvere in una piastra a pozzetti profondi da 96 pozzetti pulita (non fornita). Aggiungere 250 µl di Tampone TL e passare al punto 3 della pagina successiva.

1. Tritare fino a 10 mg di tessuto e trasferirlo in una piastra a pozzetti profondi da 96 pozzetti (non fornita).

   Nota: tagliando il tessuto in piccoli pezzi si accelera la lisi.

2. Aggiungere 250 µl di Tampone TL a ogni campione.

   Opzionale: per la lisi di capelli o altri tessuti difficili da lisare, si consiglia l'uso di una mastermix di Tampone TL e DTT.
   - Diluire il DTT fino a una concentrazione finale di 40 mM in Tampone TL.
   - Aggiungere 40 µl di DTT 1 M per 1 ml di Tampone TL prima dell'uso.
   - Preparare soltanto un quantitativo di mastermix di Tampone TL/DTT sufficiente per l'uso immediato.

3. Aggiungere 20 µl di Soluzione a base di proteinasi K a ogni campione. Mescolare al Vortex.

4. Incubare a 55 °C in un bagno termico ad acqua con agitazione.

   Nota: se il bagno termico ad acqua con agitazione non è disponibile, agitare il campione al Vortex ogni 20-30 minuti. Il tempo di lisi dipende dalla quantità e dal tipo di tessuto ma, generalmente, non supera le 3 ore. La lisi può avere luogo durante la notte.

Opzionale: aggiungere 5 µl di RNasi A a ogni campione. Mescolare al Vortex. Lasciar riposare a temperatura ambiente per 2 minuti.

5. Centrifugare a velocità massima (≥4.000*g*) per 5 minuti per ottenere un pellet di detriti di tessuto non digeriti.

6. Trasferire con cautela 200 µl di surnatante in una piastra a pozzetti profondi da 96 pozzetti senza disturbare il pellet non digerito.

7. Aggiungere 230 µl di Tampone AL a ogni campione. Mescolare al Vortex per 10 minuti. Per ottenere un risultato ottimale è fondamentale mescolare correttamente.

   Nota:
   - Per i protocolli automatici, si consiglia la miscelazione con puntale poiché produce risultati migliori.
   - Se non è possibile agitare al Vortex per 10 minuti continuativamente, agitare al Vortex per 30 secondi ogni 2 minuti per 10 minuti.

8. Aggiungere 320 µl di Tampone di legame HDQ e 20 µl di particelle Mag-Bind® Particles HDQ a ogni campione. Mescolare al Vortex per 10 minuti.

   Nota:
   - Prima dell'uso, diluire il Tampone di legame HDQ con isopropanolo al 100%. Per istruzioni vedere pagina 5. È possibile preparare il tampone di legame HDQ e le particelle Mag-Bind® Particles HDQ come una mastermix. Preparare solo la quantità necessaria per ogni sessione.
   - Se non è possibile agitare al Vortex per 10 minuti continuativamente, agitare al Vortex per 30 secondi ogni 2 minuti per 10 minuti.

9. Collocare la piastra su un dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

10. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

11. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

12. Aggiungere 600 µl di Tampone VHB ad ogni campione.

    Nota: prima dell'uso, diluire il Tampone VHB con alcol etilico al 100%. Per istruzioni vedere a pagina 5.

13. Mescolare agitando al Vortex per 15 secondi.

    Nota: la risospensione completa delle particelle Mag-Bind® Particles HDQ è di estrema importanza per ottenere una buona purezza.

14. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

15. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

16. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

17. Ripetere i punti da 12 a 16 per la seconda fase del Tampone VHB.

18. Aggiungere 600 µl di Tampone SPM a ogni campione.

    Nota: prima dell'uso, diluire il Tampone SPM con alcol etilico al 100%. Per istruzioni vedere a pagina 5.

19. Mescolare agitando al Vortex per 15 secondi.

20. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

21. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

22. Selezionare uno dei seguenti passaggi per la rimozione dell'alcol etilico:

    A. Lasciare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica. Aggiungere 500 µl di acqua priva di nucleasi (non fornita), lasciare sul magnete per 20-30 secondi, quindi aspirare. Non lasciare l'acqua priva di nucleasi sulle particelle Mag-Bind® Particles HDQ per più di 60 secondi. Passare al punto 23.

    OPPURE

    B. Lasciare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica. Attendere 1 minuto. Rimuovere il liquido residuo con un pipettatore. Lasciar asciugare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ per altri 10 minuti. Passare al punto 23.

23. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

24. Aggiungere 100-200 µl di Tampone di eluizione o acqua priva di nucleasi per eluire il DNA dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

    Nota: per migliorare il risultato, riscaldare il Tampone di eluizione o l'acqua priva di nucleasi fino a 70 °C.

25. Mescolare al Vortex per 5 minuti.

    Nota: se non è possibile agitare al Vortex continuativamente per 5 minuti, agitare al Vortex per 15 secondi ogni 1-2 minuti per 5 minuti.

26. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

27. Trasferire il surnatante rimosso contenente il DNA purificato su una micropiastra da 96 pozzetti (non fornita). Conservare il DNA a -20 °C.

Protocollo per cellule coltivate

Questo protocollo è ideato per l'isolamento rapido di un massimo di 25 µg di DNA genomico da una quantità massima di cellule coltivate pari a 5 x 10^6.

Importante: se questa procedura viene eseguita in modo automatico su un manipolatore di liquidi o un processore magnetico, contattare il rappresentante Omega Bio-tek di zona per istruzioni specifiche sullo strumento.

Materiali e attrezzature che devono essere forniti dall'utilizzatore:

- dispositivo per la separazione magnetica (si consiglia l'uso di Magnum™ EX di Alpaqua, codice articolo A000380)
- agitatore Vortex
- centrifuga con rotore a braccio oscillante con capacità fino a 4.000*g*
- bagno termostatico ad acqua con agitazione con capacità fino a 55 °C
- micropiastra da 96 pozzetti (500 µl) o piastra di eluizione di preferenza
- piastre a pozzetti profondi 2 ml, 96 pozzetti (si consiglia Nunc, codice articolo 278752) o una piastra di preferenza compatibile con il dispositivo per la separazione magnetica
- pipette multicanale e serbatoi di reagente
- PBS raffreddato (4 °C)
- alcol etilico al 100%
- isopropanolo al 100%
- acqua priva di nucleasi
- opzionale: RNasi A (10 mg/ml)
- opzionale: blocco riscaldante, incubatore o bagno termico ad acqua con capacità fino a 70 °C
- opzionale: tripsina e raschiatore per cellule

Prima di iniziare:

- Preparare il Tampone SPM, il Tampone VHB e il Tampone di legame HDQ secondo quanto indicato nella sezione "Preparazione dei reagenti" a pagina 5.
- Impostare il bagno termico ad acqua con agitazione a 55 °C.
- Opzionale: impostare il bagno termico ad acqua, l'incubatore o il blocco riscaldante a 70 °C.

1. Preparare la sospensione cellulare.

   1a. Scongelare i campioni cellulari congelati prima di iniziare il protocollo. Ottenere un pellet cellulare per centrifugazione. Lavare le cellule con PBS raffreddato (4 °C) e risospenderle in 180 µl di PBS raffreddato. Passare al punto 2 di questo protocollo.

   1b. Per le cellule cresciute in sospensione, ottenere un pellet di 5 x 10^6 cellule a 1.200*g* in una provetta per centrifuga. Gettare il surnatante, lavare una volta le cellule con PBS raffreddato (4 °C) e risospenderle in 180 µl di PBS raffreddato. Passare al punto 2 di questo protocollo.

   1c. Per le cellule cresciute in uno strato unico, raccogliere le cellule usando un trattamento a base di tripsina o un raschiatore per cellule. Lavare le cellule due volte con PBS raffreddato (4 °C) e risospenderle in 180 µl di PBS raffreddato. Passare al punto 2 di questo protocollo.

2. Preparare una mastermix di Tampone AL e Soluzione di proteinasi K solo per i campioni da estrarre secondo la tabella seguente:

Componente	Quantità per preparato	Quantità totale per piastra da 96 pozzetti
Tampone AL	230 µl	24,3 ml*
Soluzione a base di proteinasi K	20 µl	2,1 ml*

*Per la piastra da 96 pozzetti è stato calcolato un volume in eccesso del 10%.

   Importante: preparare una quantità di mastermix di Tampone AL/Soluzione a base di proteinasi K sufficiente da utilizzare entro 4 ore dalla preparazione.

3. Aggiungere una mastermix da 250 µl di Tampone AL/Soluzione a base di proteinasi K a ogni campione. Mescolare al Vortex per 10 minuti. Per ottenere un risultato ottimale è fondamentale mescolare correttamente.

   Nota:
   - Per i protocolli automatici, si consiglia la miscelazione con puntale poiché produce risultati migliori.
   - Se non è possibile agitare al Vortex per 10 minuti continuativamente, agitare al Vortex per 30 secondi ogni 2 minuti per 10 minuti.

4. Incubare a 55 °C in un bagno termico ad acqua con agitazione per 10 minuti.

   Nota: se il bagno termico ad acqua con agitazione non è disponibile, agitare il campione al Vortex ogni 2-3 minuti.

5. Trasferire i campioni in una piastra a pozzetti profondi da 96 pozzetti (non fornita).

Opzionale: aggiungere 5 µl di RNasi A a ogni campione. Mescolare al Vortex. Lasciar riposare a temperatura ambiente per 2 minuti.

6. Aggiungere 320 µl di Tampone di legame HDQ e 20 µl di particelle Mag-Bind® Particles HDQ a ogni campione. Mescolare al Vortex per 10 minuti.

   Nota:
   - Prima dell'uso, diluire il Tampone di legame HDQ con isopropanolo al 100%. Per istruzioni vedere pagina 5. È possibile preparare il tampone di legame HDQ e le particelle Mag-Bind® Particles HDQ come una mastermix. Preparare solo la quantità necessaria per ogni sessione.
   - Se non è possibile agitare al Vortex per 10 minuti continuativamente, agitare al Vortex per 30 secondi ogni 2 minuti per 10 minuti.

7. Collocare la piastra su un dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

8. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

9. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

10. Aggiungere 600 µl di Tampone VHB ad ogni campione.

    Nota: prima dell'uso, diluire il Tampone VHB con alcol etilico al 100%. Per istruzioni vedere a pagina 5.

11. Mescolare agitando al Vortex per 15 secondi.

    Nota: la risospensione completa delle particelle Mag-Bind® Particles HDQ è di estrema importanza per ottenere una buona purezza.

12. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

13. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

14. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

15. Ripetere i punti da 10 a 14 per la seconda fase del Tampone VHB.

16. Aggiungere 600 µl di Tampone SPM a ogni campione.

    Nota: prima dell'uso, diluire il Tampone SPM con alcol etilico al 100%. Per istruzioni vedere a pagina 5.

17. Mescolare agitando al Vortex per 15 secondi.

18. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

19. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

20. Selezionare uno dei seguenti passaggi per la rimozione dell'alcol etilico:

    A. Lasciare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica. Aggiungere 500 µl di acqua priva di nucleasi (non fornita), lasciare sul magnete per 20-30 secondi, quindi aspirare. Non lasciare l'acqua priva di nucleasi sulle particelle Mag-Bind® Particles HDQ per più di 60 secondi. Passare al punto 21.

    OPPURE

    B. Lasciare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica. Attendere 1 minuto. Rimuovere il liquido residuo con un pipettatore. Lasciar asciugare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ per altri 10 minuti. Passare al punto 21.

21. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

22. Aggiungere 50-200 µl di Tampone di eluizione o di acqua priva di nucleasi per eluire il DNA dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

    Nota: per migliorare il risultato, riscaldare il Tampone di eluizione o l'acqua priva di nucleasi fino a 70 °C.

23. Mescolare al Vortex per 5 minuti.

    Nota: se non è possibile agitare al Vortex continuativamente per 5 minuti, agitare al Vortex per 15 secondi ogni 1-2 minuti per 5 minuti.

24. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

25. Trasferire il surnatante rimosso contenente il DNA purificato su una micropiastra da 96 pozzetti (non fornita). Conservare il DNA a -20 °C.

Protocollo per saliva

Importante: se questa procedura viene eseguita in modo automatico su un manipolatore di liquidi o un processore magnetico, contattare il rappresentante Omega Bio-tek di zona per istruzioni specifiche sullo strumento.

Materiali e attrezzature che devono essere forniti dall'utilizzatore:

- dispositivo per la separazione magnetica (si consiglia l'uso di Magnum™ EX di Alpaqua, codice articolo A000380)
- agitatore Vortex
- bagno termostatico ad acqua con agitazione con capacità fino a 55 °C
- micropiastra da 96 pozzetti (500 µl) o piastra di eluizione di preferenza
- piastre a pozzetti profondi 2 ml, 96 pozzetti (si consiglia Nunc, codice articolo 278752) o una piastra di preferenza compatibile con il dispositivo per la separazione magnetica
- pipette multicanale e serbatoi di reagente
- alcol etilico al 100%
- isopropanolo al 100%
- acqua priva di nucleasi
- opzionale: RNasi A (10 mg/ml)
- opzionale: blocco riscaldante, incubatore o bagno termico ad acqua con capacità fino a 70 °C

Prima di iniziare:

- Preparare il Tampone SPM, il Tampone VHB e il Tampone di legame HDQ secondo quanto indicato nella sezione "Preparazione dei reagenti" a pagina 5.
- Impostare il bagno termico ad acqua con agitazione a 55 °C.
- Opzionale: impostare il bagno termico ad acqua, l'incubatore o il blocco riscaldante a 70 °C.

1. Centrifugare la provetta con la saliva a 2.000*g* per 5 minuti.

2. Trasferire 500 µl di campioni di saliva stabilizzati (ad es., DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrica® DNAgard® Saliva) in una piastra a pozzetti profondi da 96 pozzetti (non fornita).

3. Preparare una mastermix di Tampone AL e Soluzione di proteinasi K solo per i campioni da estrarre secondo la tabella seguente.

Componente	Quantità per preparato	Quantità totale per piastra da 96 pozzetti
Tampone AL	200 µl	21,12 ml*
Soluzione a base di proteinasi K	20 µl	2,1 ml*

*Per la piastra da 96 pozzetti è stato calcolato un volume in eccesso del 10%.

Importante: preparare una quantità di mastermix di Tampone AL/Soluzione a base di proteinasi K sufficiente da utilizzare entro 4 ore dalla preparazione.

4. Aggiungere 220 µl di Tampone AL/Soluzione a base di proteinasi K a ogni campione. Mescolare agitando al Vortex per 10 minuti. Per ottenere un risultato ottimale è fondamentale mescolare correttamente.

   Nota:
   - Per i protocolli automatici, si consiglia la miscelazione con puntale poiché produce risultati migliori.
   - Se non è possibile agitare al Vortex per 10 minuti continuativamente, agitare al Vortex per 30 secondi ogni 2 minuti per 10 minuti.

5. Incubare a 55 °C in un bagno termico ad acqua con agitazione per 10 minuti.

   Nota: se il bagno termico ad acqua con agitazione non è disponibile, agitare al Vortex ogni 2-3 minuti. Se è stata utilizzata una provetta DNA Genotek Oragene® ed è stata già eseguita la fase di incubazione, passare al punto 6.

Opzionale: aggiungere 5 µl di RNasi A a ogni campione. Mescolare al Vortex. Lasciar riposare a temperatura ambiente per 2 minuti.

6. Aggiungere 400 µl di Tampone di legame HDQ e 20 µl di particelle Mag-Bind® Particles HDQ ad ogni campione. Mescolare al Vortex per 10 minuti.

   Nota:
   - Prima dell'uso, diluire il Tampone di legame HDQ con isopropanolo al 100%. Per istruzioni vedere pagina 5. È possibile preparare il tampone di legame HDQ e le particelle Mag-Bind® Particles HDQ come una mastermix. Preparare solo la quantità necessaria per ogni sessione.
   - Se non è possibile agitare al Vortex per 10 minuti continuativamente, agitare al Vortex per 30 secondi ogni 2 minuti per 10 minuti.

7. Collocare la piastra su un dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

8. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

9. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

10. Aggiungere 600 µl di Tampone VHB ad ogni campione.

    Nota: prima dell'uso, diluire il Tampone VHB con alcol etilico al 100%. Per istruzioni vedere pagina 5.

11. Mescolare agitando al Vortex per 15 secondi.

    Nota: la risospensione completa delle particelle Mag-Bind® Particles HDQ è di estrema importanza per ottenere una buona purezza.

12. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

13. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

14. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

15. Ripetere i punti da 10 a 14 per la seconda fase del Tampone VHB.

16. Aggiungere 600 µl di Tampone SPM a ogni campione.

    Nota: prima dell'uso, diluire il Tampone SPM con alcol etilico al 100%. Per istruzioni vedere pagina 5.

17. Mescolare agitando al Vortex per 15 secondi.

18. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

19. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

20. Selezionare uno dei seguenti passaggi per la rimozione dell'alcol etilico:

    A. Lasciare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica. Aggiungere 500 µl di acqua priva di nucleasi (non fornita), lasciare sul magnete per 20-30 secondi, quindi aspirare. Non lasciare l'acqua priva di nucleasi sulle particelle Mag-Bind® Particles HDQ per più di 60 secondi. Passare al punto 21.

    OPPURE

    B. Lasciare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica. Attendere 1 minuto. Rimuovere il liquido residuo con un pipettatore. Lasciar asciugare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ per altri 10 minuti. Passare al punto 21.

21. Aggiungere 100-200 µl di Tampone di eluizione o acqua priva di nucleasi per eluire il DNA dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

    Nota: per migliorare il risultato, riscaldare il Tampone di eluizione o l'acqua priva di nucleasi fino a 70 °C.

22. Mescolare al Vortex per 5 minuti.

    Nota: se non è possibile agitare al Vortex continuativamente per 5 minuti, agitare al Vortex per 15 secondi ogni 1-2 minuti per 5 minuti.

23. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

24. Trasferire il surnatante rimosso contenente il DNA purificato su una micropiastra da 96 pozzetti (non fornita). Conservare il DNA a -20 °C.

Protocollo per tamponi buccali

Importante: se questa procedura viene eseguita in modo automatico su un manipolatore di liquidi o un processore magnetico, contattare il rappresentante Omega Bio-tek di zona per istruzioni specifiche sullo strumento.

Materiali e attrezzature che devono essere forniti dall'utilizzatore:

- dispositivo per la separazione magnetica (si consiglia l'uso di Magnum™ EX di Alpaqua, codice articolo A000380)
- agitatore Vortex
- centrifuga con rotore a braccio oscillante con capacità fino a 4.000*g*
- adattatore per centrifuga per piastre da 96 pozzetti
- bagno termostatico ad acqua con agitazione con capacità fino a 55 °C
- micropiastra da 96 pozzetti (500 µl) o piastra di eluizione di preferenza
- piastre a pozzetti profondi 2 ml, 96 pozzetti (si consiglia Nunc, codice articolo 278752) o una piastra di preferenza compatibile con il dispositivo per la separazione magnetica
- pipette multicanale e serbatoi di reagente
- alcol etilico al 100%
- isopropanolo al 100%
- opzionale: RNasi A (10 mg/ml)
- opzionale: acqua priva di nucleasi
- opzionale: blocco riscaldante, incubatore o bagno termico ad acqua con capacità fino a 70 °C

Prima di iniziare:

- Preparare il Tampone SPM, il Tampone VHB e il Tampone di legame HDQ secondo quanto indicato nella sezione "Preparazione dei reagenti" a pagina 5.
- Impostare il bagno termico ad acqua con agitazione a 55 °C.
- Opzionale: impostare il bagno termico ad acqua, l'incubatore o il blocco riscaldante a 70 °C.

1. Tagliare la punta del tampone o del pennello buccale e inserire ogni tampone in una piastra a pozzetti profondi da 96 pozzetti (non fornita).

2. Preparare una mastermix di Tampone AL, Soluzione a base di proteinasi K e Tampone di eluizione solo per i campioni da estrarre, secondo la tabella seguente:

Componente	Quantità per preparato	Quantità totale per piastra da 96 pozzetti
Tampone AL	290 µl	30,6 ml*
Soluzione a base di proteinasi K	20 µl	2,1 ml*
Tampone di eluizione	250 µl	26,4 ml

*Per una piastra da 96 pozzetti è stato calcolato un volume in eccesso del 10%.

Importante: preparare una quantità di mastermix di Tampone AL/Soluzione a base di proteinasi K/Tampone di eluizione sufficiente da utilizzare entro 4 ore dalla preparazione.

3. Aggiungere 560 µl della mastermix di Tampone AL/Soluzione a base di proteinasi K/ Tampone di eluizione a ogni campione. Mescolare agitando al vortex o pipettando su e giù per 20 volte.

   Nota: per i protocolli automatici, si consiglia la miscelazione tramite puntale poiché produce risultati migliori.

4. Incubare a 55 °C in un bagno termico ad acqua con agitazione per 10 minuti.

   Nota: se il bagno termico ad acqua con agitazione non è disponibile, agitare al Vortex ogni 2-3 minuti.

5. Centrifugare a 3.000*g* per 2 minuti.

6. Trasferire 500 µl di lisato in una nuova piastra a pozzetti profondi da 96 pozzetti. Non trasferire i tamponi nella nuova piastra.

Opzionale: aggiungere 5 µl di RNasi A a ogni campione. Mescolare al Vortex. Lasciar riposare a temperatura ambiente per 2 minuti.

7. Aggiungere 350 µl di Tampone di legame HDQ e 20 µl di particelle Mag-Bind® Particles HDQ a ogni campione. Mescolare al Vortex per 10 minuti.

   Nota:
   - Prima dell'uso, diluire il Tampone di legame HDQ con isopropanolo al 100%. Per istruzioni vedere a pagina 5. È possibile preparare il tampone di legame HDQ e le particelle Mag-Bind® Particles HDQ come una mastermix. Preparare solo la quantità necessaria per ogni sessione.
   - Se non è possibile agitare al Vortex per 10 minuti continuativamente, agitare al Vortex per 30 secondi ogni 2 minuti per 10 minuti.

8. Collocare la piastra su un dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

9. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

10. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

11. Aggiungere 600 µl di Tampone VHB ad ogni campione.

    Nota: prima dell'uso, diluire il Tampone VHB con alcol etilico al 100%. Per istruzioni vedere a pagina 5.

12. Mescolare agitando al Vortex per 15 secondi.

    Nota: la risospensione completa delle particelle Mag-Bind® Particles HDQ è di estrema importanza per ottenere una buona purezza.

13. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

14. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

15. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

16. Ripetere i punti da 11 a 15 per la seconda fase del Tampone VHB.

17. Aggiungere 600 µl di Tampone SPM a ogni campione.

    Nota: prima dell'uso, diluire il Tampone SPM con alcol etilico al 100%. Per istruzioni vedere a pagina 5.

18. Mescolare agitando al Vortex per 15 secondi.

19. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

20. Aspirare e gettare il surnatante rimosso. Non disturbare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

21. Lasciare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per 10 minuti, per far asciugare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Rimuovere l'eventuale liquido residuo dai pozzetti.

    Nota: in questa fase è necessario aspirare tutto il liquido. È utile rimuovere tutto il liquido dai pozzetti, attendere un minuto e rimuovere di nuovo il liquido residuo dai pozzetti.

22. Rimuovere la piastra contenente le particelle Mag-Bind® Particles HDQ dal dispositivo per la separazione magnetica.

23. Aggiungere 100-200 µl di Tampone di eluizione o acqua priva di nucleasi (non fornita) per eluire il DNA dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

    Nota: per migliorare il risultato, riscaldare il Tampone di eluizione o l'acqua priva di nucleasi fino a 70 °C.

24. Mescolare al Vortex per 5 minuti.

    Nota: se non è possibile agitare al Vortex continuativamente per 5 minuti, agitare al Vortex per 15 secondi ogni 1-2 minuti per 5 minuti.

25. Collocare la piastra sul dispositivo per la separazione magnetica per magnetizzare le particelle Mag-Bind® Particles HDQ. Lasciar riposare a temperatura ambiente fino a quando la soluzione non viene completamente rimossa dalle particelle Mag-Bind® Particles HDQ.

26. Trasferire il surnatante rimosso contenente il DNA purificato su una micropiastra da 96 pozzetti (non fornita). Conservare il DNA a -20 °C.

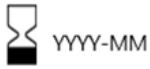
Contatti

Per riordinare i materiali, segnalare un guasto o presentare un reclamo in merito al dispositivo, contattare:

	Fabbricante Omega Bio-tek, Inc. 400 Pinnacle Way Suite #450 Norcross, GA 30071, USA Sito Web: www.omegabiotek.com E-mail: info@omegabiotek.com SRN: US-MF-000024148
	Mandatario europeo QbD RepS BV Groenenborgerlaan 16 2610 Wilrijk Belgium SRN: BE-AR-000000040
	Rappresentante autorizzato Svizzera Qarad Suisse S.A. World Trade Center Avenue Gratta-Paille 2 1018 Lausanne Switzerland CHRN: CHRN-AR-20002058
Regno Unito	**Rappresentante autorizzato del Regno Unito** QbD RepS UK Ltd Waterside, Unit 33 Schooner Court, 44-48 Wharf Road, London N1 7UX Regno Unito

Simboli

I seguenti simboli possono essere presenti nelle istruzioni per l'uso o sulla confezione e sull'etichetta:

Simbolo	Descrizione
	Confezione danneggiata (Non utilizzare se la confezione è danneggiata)
EC REP	Mandatario per l'UE
CH REP	Rappresentante autorizzato Svizzera
	Data di scadenza
	Intervallo di temperatura per la conservazione a lungo termine
	Controllare le condizioni di conservazione dei componenti
LOT	Numero di lotto
REF	Numero di riferimento, codice articolo o numero di catalogo
SN	Numero di serie
QTY	Quantità
	Attenzione
	Istruzioni per l'uso
CE	Marchio di conformità
IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro

Simboli

	Identificatore univoco del dispositivo
	Fabbricante
	Nessun pericolo aggiuntivo o non classificato come pericoloso secondo GHS
	Sito Web
	Telefono
	Fax
	E-mail
	LinkedIn
	Twitter
	Facebook
	Per informazioni sul riciclo visita www.omegabiotek.com/company/recycling

Cronologia delle revisioni

Revisione	Descrizione
v1.3, Giugno 2026	Aggiunte informazioni sul riciclo e aggiornati nome e indirizzo del Rappresentante Autorizzato nel Regno Unito.
v1.2, Aprile 2025	Modificare il nome e l'indirizzo del rappresentante autorizzatonell'UE e aggiungere il rappresentante del Regno Unito
v1.1, Luglio 2023	Aggiunte informazioni sul rappresentante autorizzato per la Svizzera
v1.0, Dicembre 2022	Versione iniziale

Avvisi ed esclusioni di garanzia

Divulgazione REACH

Per l'uso nell'Unione Europea.

Il Tampone AL contiene Triton X-100, 2-[4-(2,4,4-trimetilpentano-2-il) fenossi]etanolo (CAS 9002-93-1), una sostanza inclusa nell'Elenco di autorizzazioni europeo (Allegato XIV) del Regolamento REACH (EC) N. 1907/2006. Le sostanze e le miscele utilizzate a fini di ricerca scientifica e sviluppo (SR&D, Scientific Research and Development) sono esenti dall'obbligo di autorizzazione se utilizzate in volume inferiore a 1 tonnellata all'anno.

Nell'ambito della ricerca scientifica e dello sviluppo sono compresi la ricerca sperimentale o le attività analitiche su scala di laboratorio come la sintesi e i test di applicazione di sostanze chimiche, prove di cessione, ecc., nonché l'uso della sostanza nel monitoraggio e nel controllo di qualità di routine o nella diagnostica in vitro.

Marchi e licenze

Mag-Bind®, HiBind®, E.Z.N.A.® e MicroElute® sono marchi registrati Omega Bio-tek, Inc
DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrica® DNAgard® Saliva sono tutti marchi registrati delle rispettive aziende.
Il processo PCR è un brevetto di Hoffman-La Roche. Per utilizzare il processo PCR è necessario possedere una licenza.