omega BIO-TEK

innovations in nucleic acid isolation

Producthandleiding

Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD

Product	Preparaten
M6399-01CEIVD	4 x 96 preparaten

Datum handleiding: November 2026
Revisienummer: v1.4

IVD

Voor in vitro diagnostisch gebruik

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

Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD

Inhoudsopgave

Beoogd gebruik en beoogde gebruiker....2
Productbeschrijving....3
Inhoud van de kit....4
Opslag en stabiliteit....4
Magnetische scheidingsapparaten en kunststof artikelen....4
Reagentia voorbereiden....5
Kwaliteitscontrole....6
Waarschuwingen/veiligheidsinformatie....6
Voorzorgsmaatregelen....7
Beperkingen....9
Protocol voor bloed....10
Protocol voor weefsel....14
Protocol voor celculturen....19
Protocol voor speeksel....24
Protocol voor monduitstrijkjes....28
Contactinformatie....32
Symbolen....33
Revisiegeschiedenis....35
Verklaringen en disclaimers....36

Datum handleiding: November 2026
Revisienummer: v1.4

omega BIO-TEK
innovations in nucleic acid isolation

Beoogd gebruik

Voor in vitro diagnostisch gebruik.

De Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD is bedoeld voor isolatie en zuivering van genomisch DNA uit verse of ingevroren celculturen en weefsels, maximaal 250 µl volbloed, monduitstrijkjes, maximaal 500 µl speeksel, en gedroogde bloeddruppels.

De Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD maakt gebruik van technologie op basis van magnetische deeltjes en kan handmatig of automatisch worden verwerkt in de meeste open platforms voor vloeistofverwerking en magnetische verwerkers.

Beoogde gebruiker

Deze kit is bedoeld voor professioneel gebruik.

De Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD is bedoeld voor in vitro gebruik en voor gebruik door professionele gebruikers, zoals laboratoriumpersoneel, technici, onderzoekers en artsen, die specifieke instructies en training hebben gekregen op het gebied van technieken voor moleculaire biologie en die bekend zijn met handmatige of geautomatiseerde zuivering aan de hand van magnetische deeltjes.

Productbeschrijving

De Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD biedt een veelzijdige methode voor de isolatie van hoogwaardig DNA uit een breed scala aan monsters, waaronder verse of ingevroren dierlijke celculturen en weefsels, maximaal 250 µl volbloed, monduitstrijkjes, maximaal 500 µl speeksel, en gedroogde bloeddruppels. De Mag-Bind® HDQ-deeltjes bieden een korte magnetische responstijd waarmee de algehele verwerkingstijd kan worden verkort. Dit systeem combineert de reversibele nucleïnezuur bindende eigenschappen van de paramagnetische Mag-Bind®-deeltjes met de bewezen efficiëntie van Omega Bio-tek's bufferchemie voor een snelle en handige methode voor het isoleren van DNA uit een verscheidenheid aan monsters. De zuiveringsprocedure levert hoogwaardig DNA op dat geschikt is voor direct gebruik bij de meeste daaropvolgende toepassingen, zoals amplificatie, next generation sequencing en enzymatische reacties.

Indien u de Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD voor de eerste keer gebruikt, lees deze brochure dan volledig door en zorg ervoor dat u vertrouwd bent met de procedures. Monsters worden gelyseerd in buffersystemen die elk specifiek zijn bedoeld voor een bepaald startmateriaal. Na de lysis worden de monsters gemengd met HDQ-bindingsbuffer en Mag-Bind® HDQ-deeltjes om het DNA aan de magnetische deeltjes te binden. De paramagnetische deeltjes worden gescheiden van het lysaat met behulp van een magnetisch scheidingsapparaat. Na een aantal snelle wasstappen om resten verontreinigingen te verwijderen, wordt het DNA geëlueerd in een elutiebuffer.

Een overzicht van methoden voor isolatie en zuivering van DNA/RNA wordt gegeven in de volgende literatuur waarnaar wordt verwezen[1,2].

Belangrijk:

1. Als deze procedure automatisch wordt uitgevoerd in een vloeistofverwerker of magnetische verwerker, neem dan contact op met uw vertegenwoordiger van Omega Bio-tek voor instrumentspecifieke instructies.

2. De kits bevatten voldoende reagentia voor het aangegeven aantal preparaten plus een extra 10% om te garanderen dat er voldoende volume is. Wees u ervan bewust dat het daadwerkelijke aantal preparaten lager kan zijn vanwege het vooraf aliquoteren van reagentia, verwerken van gedeeltelijke platen, het gebruikte platform, etc.

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.

Inhoud van de kit

Product	M6399-01CEIVD
Zuiveringen	4 x 96
AL-buffer	125 ml
TL-buffer	120 ml
HDQ-bindingsbuffer	40 ml
VHB-buffer	230 ml
SPM-buffer	150 ml
Elutiebuffer	250 ml
Proteïnase K-oplossing	9 ml
Mag-Bind® HDQ-deeltjes	9 ml

Opslag en stabiliteit

De stabiliteit van alle componenten van de Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD is minimaal 12 maanden vanaf de datum van aankoop gegarandeerd wanneer de kit als volgt wordt bewaard. De proteïnase K-oplossing kan maximaal 12 maanden bij kamertemperatuur worden bewaard. Indien de proteïnase K-oplossing langer moet worden bewaard, slaat u deze op bij 2-8 °C. Bewaar alle andere componenten bij de aanbevolen temperatuur die staat aangegeven op het etiket van de fles. Zodra het product is geopend, dient het product te worden bewaard in overeenstemming met de instructies op het etiket. Zorg ervoor dat de doppen na ieder gebruik goed worden dichtgedraaid. Tijdens verzending of opslag in een koele omgeving kunnen er in sommige buffers bezinksels ontstaan. Dergelijke bezinksels kunnen worden opgelost door de oplossing te verwarmen bij 37 °C en de oplossing voorzichtig te schudden.

Magnetische scheidingsapparaten en kunststof artikelen

Hoewel veel merken magnetische scheidingsapparaten compatibel zijn met de Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD, raden we aan Alpaqua's Magnum™ EX universele magnetische plaat (onderdeelnr. A000380) te gebruiken in combinatie met de Nunc 2 mL DeepWell™-platen (onderdeelnr. 278752). Deze combinatie zorgt voor korte magnetisatietijden: slechts 1 minuut voor volledige magnetisatie tijdens wasstappen en 5 minuten voor de stappen voor lysaatverwijdering.

Ongeacht welk magnetisch scheidingsapparaat worden gekozen, dient te worden gecontroleerd of het apparaat compatibel is met de kunststof artikelen die noodzakelijk zijn voor gebruik met deze kit.

Reagentia voorbereiden

1. Verdun de SPM-buffer met 350 ml 100% ethanol en bewaar op kamertemperatuur.

2. Bereid de VHB-buffer met 290 ml 100% ethanol en bewaar op kamertemperatuur.

3. Bereid de HDQ-bindingsbuffer met 160 ml 100% isopropanol en bewaar op kamertemperatuur.

4. Schud de Mag-Bind® HDQ-deeltjes of plaats in de vortexer om er vóór gebruik voor te zorgen dat alle deeltjes volledig zijn geresuspendeerd. De deeltjes moeten volledig gesuspendeerd zijn tijdens gebruik om een goede binding te verzekeren.

Kwaliteitscontrole

In overeenstemming met het ISO-gecertificeerde kwaliteitsbeheersysteem van Omega Bio-tek worden alle reagentia van de Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD routinematig getest van partij tot partij volgens vooraf bepaalde specificaties om de betrouwbaarheid van de prestaties en de consistentie van de productkwaliteit te garanderen.

Waarschuwingen

Deze kit is bedoeld voor in vitro diagnostisch gebruik.

Lees alle instructies zorgvuldig voordat u de kit gaat gebruiken.

Ontsmet alle mogelijk infectieuze materialen en voer deze af in overeenstemming met de geldende lokale en Europese regelgeving. Klanten in de Europese Unie moeten zich bewust zijn van het feit dat ernstige incidenten die verband houden met het apparaat moeten worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waarin de gebruiker en/of de patiënt zich bevindt. Neem voor hulp contact op met Omega Bio-tek via info@omegabiotek.com.

Als u deze kit volgens een workflow voor automatische extractie gebruikt, moet het oppervlak van het geautomatiseerde platform als biologisch gevaar worden beschouwd. Gebruik geschikte methoden voor ontsmetting en afvoer volgens alle geldende lokale en/of landelijke regelgeving.

Veiligheidsinformatie

Alle chemicaliën en biologische materialen zijn potentieel gevaarlijk.

Biologische monsters als plasma, serum, weefsels, lichaamsvloeistoffen, bloed etc. zijn potentieel infectieus en moeten worden behandeld als biologisch gevaarlijke materialen. Voer al het werk uit in faciliteiten met de juiste apparatuur, volg universele voorzorgsmaatregelen en gebruik geschikte persoonlijke beschermingsmiddelen, zoals wegwerphandschoenen, labjassen, veiligheidsbrillen, etc., zoals bepaald in het beleid en de procedures van uw faciliteit.

Raadpleeg de veiligheidsgegevensbladen (SDS'en) voor informatie over het veilig hanteren, transporteren en afvoeren van de verschillende reagentia in deze kit. SDS'en zijn beschikbaar als pdf op de productpagina op www.omegabiotek.com. Voer al het afval af in overeenstemming met de lokale veiligheidsvoorschriften.

Voorzorgsmaatregelen

Sommige buffers in de Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD bevatten chaotrope middelen op basis van guanidine die een zeer reactieve verbinding kunnen vormen wanneer deze worden gecombineerd met bleek. **Voeg GEEN bleek of zuuroplossingen** toe aan afval van de monstervoorbereiding dat guanidine bevat. Bekijk de SDS'en online voor gedetailleerde informatie over de reagentia.

Component	Beschrijving
AL-buffer 	Bevat: Guanidine hydrochloride. Waarschuwing! Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Veroorzaakt huidirritatie. Schadelijk bij inslikking. Niet eten, drinken of roken tijdens het gebruik van dit product. Was alle blootgestelde uitwendige lichaamsdelen grondig na hantering. Draag beschermende handschoenen, beschermende kleding, oogbescherming en gezichtsbescherming. BIJ DE OGEN: Voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Verwijder contactlenzen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Ga door met spoelen. Roep medisch advies/hulp in als oogirritatie aanhoudt. Verontreinigde kleding uittrekken en wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken. OP DE HUID: Met veel water en zeep wassen. Roep medisch advies/hulp in als huidirritatie of huiduitslag optreedt. INSLIKKEN: mond spoelen. Bel een antigifcentrum of een arts als u zich onwel voelt.
TL-buffer 	Bevat: anionisch detergens. Waarschuwing! Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Inademing van nevel/damp/spuitnevel vermijden. Verontreinigde werkkleding mag de werkruimte niet verlaten. Beschermende handschoenen/ beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. BIJ CONTACT MET DE OGEN: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien aanwezig en mogelijk. Blijven spoelen. Bij aanhoudende oogirritatie: een arts raadplegen. BIJ CONTACT MET DE HUID: met veel water en zeep wassen. Bij huidirritatie of uitslag: een arts raadplegen. Verontreinigde kleding wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken.
Proteïnase K-oplossing 	Bevat: proteïnase K. Gevaar! Veroorzaakt milde huidirritatie. Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken. Inademing van stof/ rook/gas/nevel/damp/spuitnevel vermijden. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/ gelaatsbescherming dragen. Adembescherming dragen. Na (mogelijke) blootstelling: een antigifcentrum of arts raadplegen. Bij ademhalingsmoeilijkheden het slachtoffer in de frisse lucht brengen en laten rusten in een houding die het ademen vergemakkelijkt.

Voorzorgsmaatregelen

Component	Beschrijving
HDQ-bindingsbuffer   	Bevat: Natriumperchloraat. Gevaar! Kan schade aan organen veroorzaken bij langdurige of herhaalde blootstelling. Kan brand of explosie veroorzaken; sterke oxidator. Schadelijk bij inslikking. Verwijderd houden van hitte, hete oppervlakken, vonken, open vuur en andere ontstekingsbronnen. Niet roken. Verwijderd houden van kleding en andere brandbare materialen. Nevel/damp/spuitnevel niet inademen. Was alle blootgestelde uitwendige lichaamsdelen grondig na hantering. Eet, drink of rook niet tijdens het gebruik van dit product. Draag beschermende handschoenen en beschermende kleding. INSLIKKEN: mond spoelen. Bij onwel voelen een ANTIGIFCENTRUM/dokter/arts/EHBO'er bellen. OP KLEDING: Verontreinigde kleding en huid onmiddellijk met veel water spoelen alvorens kleding uit te trekken. Roep medisch advies/ hulp in als u zich onwel voelt. In geval van brand: Gebruik ... om te blussen. In geval van grote brand en grote hoeveelheden: Ruimte evacueren. Brand op afstand bestrijden i.v.m. explosiegevaar.
VHB-buffer 	Bevat: guanidiniumchloride. Waarschuwing! Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Veroorzaakt huidirritatie. Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Schadelijk bij inslikken. Inademing van nevel/damp/spuitnevel vermijden. Niet eten, drinken of roken tijdens het gebruik van dit product. Verontreinigde werkkleding mag de werkruimte niet verlaten. Beschermende handschoenen/ beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. Na (mogelijke) blootstelling: een antigifcentrum of arts raadplegen. BIJ CONTACT MET DE OGEN: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien aanwezig en mogelijk. Blijven spoelen. Bij aanhoudende oogirritatie: een arts raadplegen. Verontreinigde kleding uittrekken en wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken. BIJ CONTACT MET DE HUID: met veel water en zeep wassen. Bij huidirritatie of uitslag: een arts raadplegen. NA INSLIKKEN: de mond spoelen. Bij onwel voelen een arts raadplegen.

Beperkingen

De prestaties van de kit zijn beoordeeld door genomisch DNA te isoleren uit 250 µl volbloed, monduitstrijkjes, 500 µl gepreserveerd speeksel en celculturen. De prestaties van de kit zijn verder gevalideerd door de geschiktheid van het gezuiverde genomisch DNA te beoordelen tijdens direct daaropvolgende analyse aan de hand van een standaardmethode voor amplificatie. Wees u ervan bewust dat de gebruiker verantwoordelijk is voor het verifiëren van de prestatiekenmerken van procedures die niet zijn behandeld in de prestatieonderzoeken van Omega Bio-tek. De gebruiker is ook verantwoordelijk voor het bepalen van de prestatiecijfers die noodzakelijk zijn voor de volgende diagnostische toepassing van hun keuze. Geschikte en toereikende controles moeten worden toegepast tijdens alle volgende diagnostische toepassingen waarbij gebruik wordt gemaakt van genomisch DNA dat is gezuiverd met de Mag-Bind® DNA-kit voor bloed en weefsel CE IVD.

Protocol voor bloed

De onderstaande procedure is geoptimaliseerd voor gebruik met 250 µl VERSE of INGEVROREN bloedmonsters. Er kan ook een buffycoat worden gebruikt.

Belangrijk: als deze procedure automatisch wordt uitgevoerd in een vloeistofverwerker of magnetische verwerker, neem dan contact op met uw vertegenwoordiger van Omega Bio-tek voor instrumentspecifieke instructies.

Door de gebruiker te leveren materialen en reagentia:

- Magnetisch scheidingsapparaat (aanbevolen: Alpaqua Magnum™ EX, onderdeelnr. A000380)
- Vortexer
- Warmteblok, incubator of waterbad met een vermogen van 70 °C
- Microplaat met 96 wells (500 µl) of gewenste elutieplaat
- Plaat met 96 diepe wells van 2 ml (aanbevolen: Nunc, onderdeelnr. 278752) of gewenste plaat die compatibel is met het magnetisch scheidingsapparaat
- Pipetten met meerdere kanalen en reagensreservoirs
- 100% ethanol
- 100% isopropanol
- Nucleasevrij water
- Optioneel: RNase A (10 mg/ml)
- Optioneel: PBS (fosfaatgebufferde zoutoplossing)

Voordat u begint:

- Bereid SPM-buffer, VHB-buffer en HDQ-bindingsbuffer volgens het gedeelte "Reagentia voorbereiden" op pagina 5.
- Stel warmteblok, incubator of waterbad in op 70 °C.

1. Bereid een mastermix van alleen AL-buffer en proteïnase K-oplossing voor monsters die moeten worden geëxtraheerd volgens de onderstaande tabel:

Component	Hoeveelheid per preparaat	Totale hoeveelheid per plaat met 96 wells
AL-buffer	290 µl	30,6 ml*
Proteïnase K-oplossing	20 µl	2,1 ml*

* 10% extra volume is berekend voor een plaat met 96 wells.

Belangrijk: bereid uitsluitend de hoeveelheid mastermix van AL-buffer/proteïnase K-oplossing die binnen 4 uur na bereiding zal worden gebruikt.

2. Plaats een bloedmonster van 250 µl in een plaat met 96 diepe wells van 2 ml (niet meegeleverd). Als het volume bloed minder is dan 250 µl, kunt u het volume aanvullen tot 250 µl met PBS (niet meegeleverd) of elutiebuffer (inbegrepen in deze kit).

3. Voeg 310 µl mastermix van AL-buffer/proteïnase K-oplossing toe aan elk monster. Plaats in de vortexer of pipetteer 20 keer op en neer om te mengen. Goed mengen is cruciaal voor goede resultaten.

   Opmerking: bij geautomatiseerde protocollen levert mengen met tips de beste resultaten op en dit wordt aanbevolen.

4. Incubeer bij 70 °C gedurende 10 minuten.

Optioneel: voeg 5 µl RNase A toe aan elk monster. Plaats in de vortexer om te mengen. Laat gedurende 2 minuten bij kamertemperatuur staan.

5. Voeg 400 µl HDQ-bindingsbuffer en 20 µl Mag-Bind® HDQ-deeltjes toe aan elk monster. Plaats gedurende 10 minuten in de vortexer om te mengen.

   Opmerking:
   - HDQ-bindingsbuffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% isopropanol. Zie pagina 5 voor instructies. HDQ-bindingsbuffer en Mag-Bind® HDQ-deeltjes kunnen worden bereid als mastermix. Bereid uitsluitend de benodigde hoeveelheid voor iedere cyclus.
   - Als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 10 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 2 minuten voor 30 seconden in de vortexer gedurende 10 minuten.

6. Plaats de plaat op een magnetisch scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

7. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

8. Verwijder de plaat van het magnetische scheidingsapparaat.

9. Voeg 600 µl VHB-buffer toe aan elk monster.

   Opmerking: VHB-buffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% ethanol. Zie pagina 5 voor instructies.

10. Plaats 15 seconden in de vortexer om te mengen.

    Opmerking: volledige resuspensie van de Mag-Bind® HDQ-deeltjes is cruciaal om een goede zuiverheid te verkrijgen.

11. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

12. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer deze af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

13. Verwijder de plaat van het magnetische scheidingsapparaat.

14. Herhaal stap 9-13 voor een tweede VHB-bufferstap.

15. Voeg 600 µl SPM-buffer toe aan elk monster.

    Opmerking: SPM-buffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% ethanol. Zie pagina 5 voor instructies.

16. Plaats 15 seconden in de vortexer om te mengen.

17. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

18. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer deze af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

19. Kies een van de volgende stappen voor het verwijderen van ethanol:

    A. Laat de plaat op het magnetische scheidingsapparaat liggen. Voeg 500 µl nucleasevrij water (niet meegeleverd) toe, laat gedurende 20-30 seconden op de magneet staan en aspireer vervolgens. Laat het nucleasevrije water niet langer dan 60 seconden bij de Mag-Bind® HDQ-deeltjes. Ga verder met stap 20.

    OF

    B. Laat de plaat op het magnetische scheidingsapparaat liggen. Wacht 1 minuut. Verwijder resterende vloeistof met een pipet. Droog de Mag-Bind® HDQ-deeltjes nog eens 10 minuten. Ga verder met stap 20.

20. Verwijder de plaat van het magnetische scheidingsapparaat.

21. Voeg 50-200 µl elutiebuffer of nucleasevrij water toe om DNA uit de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te elueren.

    Opmerking: verwarm de elutiebuffer of het nucleasevrije water tot 70 °C om de resultaten te verbeteren.

22. Plaats gedurende 5 minuten in de vortexer om te mengen.

    Opmerking: als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 5 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 1-2 minuten voor 15 seconden in de vortexer gedurende 5 minuten.

23. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

24. Breng de gescheiden supernatante vloeistof met het gezuiverde DNA over naar een microplaat met 96 wells (niet meegeleverd). Bewaar DNA bij -20 °C.

Protocol voor weefsel

Met deze methode kan genomisch DNA worden geïsoleerd uit maximaal 10 mg weefsel. Resultaten kunnen variëren afhankelijk van de bron.

Belangrijk: als deze procedure automatisch wordt uitgevoerd in een vloeistofverwerker of magnetische verwerker, neem dan contact op met uw vertegenwoordiger van Omega Bio-tek voor instrumentspecifieke instructies.

Door de gebruiker te leveren materialen en apparatuur:

- Magnetisch scheidingsapparaat (aanbevolen: Alpaqua Magnum™ EX, onderdeelnr. A000380)
- Vortexer
- Centrifuge met rotor met zwenkende bekers en een vermogen van 4000 *g*
- Centrifuge-adapter voor platen met 96 wells
- Schuddend waterbad dat kan worden ingesteld op 55 °C
- Microplaat met 96 wells (500 µl) of gewenste elutieplaat
- Platen met 96 diepe wells van 2 ml (aanbevolen: Nunc, onderdeelnr. 278752) of gewenste plaat die compatibel is met het magnetisch scheidingsapparaat
- Pipetten met meerdere kanalen en reagensreservoirs
- 100% ethanol
- 100% isopropanol
- Nucleasevrij water
- Aanbevolen: 1M Dithiothreitol (DTT)
- Optioneel: RNase A (10 mg/ml)
- Optioneel: warmteblok, incubator of waterbad met een vermogen van 70 °C
- Optioneel: vloeibare stikstof en vijzel

Voordat u begint:

- Bereid SPM-buffer, VHB-buffer en HDQ-bindingsbuffer volgens het gedeelte "Reagentia voorbereiden" op pagina 5.
- Stel het waterbad in op 55 °C.
- Optioneel: stel waterbad, incubator of warmteblok in op 70 °C.
- Aanbevolen: voeg voorafgaand aan gebruik 40 µl 1M DTT per 1 ml TL-buffer toe.

OPTIONEEL: hoewel mechanisch homogeniseren van weefsel niet noodzakelijk is, verbetert het verpoederen van de monsters in vloeibare stikstof de lysis en verkort dit de incubatietijd. Zodra de vloeibare stikstof is verdampt, brengt u het verpoederde weefsel over naar een schone plaat met 96 diepe wells (niet meegeleverd). Voeg 250 µl TL-buffer toe en ga verder met stap 3 op de volgende pagina.

1. Vermaal maximaal 10 mg weefsel en breng over naar een plaat met 96 diepe wells (niet meegeleverd).

   Opmerking: het fijnmaken van het weefsel kan de lysis versnellen.

2. Voeg 250 µl TL-buffer toe aan elk monster.

   Optioneel: voor de lysis van haar of andere moeilijk te lyseren weefsels wordt een mastermix van TL-buffer en DTT aanbevolen.
   - Verdun DTT tot een uiteindelijke concentratie van 40 mM in TL-buffer.
   - Voeg voorafgaand aan gebruik 40 µl 1M DTT per 1 ml TL-buffer toe.
   - Bereid uitsluitend de hoeveelheid mastermix van TL-buffer/DTT die u onmiddellijk gaat gebruiken.

3. Voeg 20 µl proteïnase K-oplossing toe aan elk monster. Plaats in de vortexer om te mengen.

4. Incubeer bij 55 °C in een schuddend waterbad.

   Opmerking: als er geen schuddend waterbad beschikbaar is, plaats het monster dan elke 20-30 minuten in de vortexer. De lysetijd is afhankelijk van de hoeveelheid en het type weefsel, maar is doorgaans korter dan 3 uur. De lysis kan 's nachts worden gedaan.

Optioneel: voeg 5 µl RNase A toe aan elk monster. Plaats in de vortexer om te mengen. Laat gedurende 2 minuten bij kamertemperatuur staan.

5. Centrifugeer op maximale snelheid (≥ 4000 *g*) gedurende 5 minuten om eventueel onopgeloste weefselresten van de vloeistof te scheiden.

6. Breng 200 µl van de supernatante vloeistof voorzichtig over naar een nieuwe plaat met 96 diepe wells zonder de onopgeloste delen te verstoren.

7. Voeg 230 µl AL-buffer toe aan elk monster. Plaats gedurende 10 minuten in de vortexer om te mengen. Goed mengen is cruciaal voor goede resultaten.

   Opmerking:
   - bij geautomatiseerde protocollen levert mengen met tips de beste resultaten op en dit wordt aanbevolen.
   - Als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 10 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 2 minuten voor 30 seconden in de vortexer gedurende 10 minuten.

8. Voeg 320 µl HDQ-bindingsbuffer en 20 µl Mag-Bind® HDQ-deeltjes toe aan elk monster. Plaats gedurende 10 minuten in de vortexer om te mengen.

   Opmerking:
   - HDQ-bindingsbuffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% isopropanol. Zie pagina 5 voor instructies. HDQ-bindingsbuffer en Mag-Bind® HDQ-deeltjes kunnen worden bereid als mastermix. Bereid uitsluitend de benodigde hoeveelheid voor iedere cyclus.
   - Als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 10 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 2 minuten voor 30 seconden in de vortexer gedurende 10 minuten.

9. Plaats de plaat op een magnetisch scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

10. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

11. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

12. Voeg 600 µl VHB-buffer toe aan elk monster.

    Opmerking: VHB-buffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% ethanol. Zie pagina 5 voor instructies.

13. Plaats 15 seconden in de vortexer om te mengen.

    Opmerking: volledige resuspensie van de Mag-Bind® HDQ-deeltjes is cruciaal om een goede zuiverheid te verkrijgen.

14. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

15. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

16. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

17. Herhaal stap 12-16 voor een tweede VHB-bufferstap.

18. Voeg 600 µl SPM-buffer toe aan elk monster.

    Opmerking: SPM-buffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% ethanol. Zie pagina 5 voor instructies.

19. Plaats 15 seconden in de vortexer om te mengen.

20. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

21. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

22. Kies een van de volgende stappen voor het verwijderen van ethanol:

    A. Laat de plaat op het magnetische scheidingsapparaat liggen. Voeg 500 µl nucleasevrij water (niet meegeleverd) toe, laat gedurende 20-30 seconden op de magneet staan en aspireer vervolgens. Laat het nucleasevrije water niet langer dan 60 seconden bij de Mag-Bind® HDQ-deeltjes. Ga verder met stap 23.

    OF

    B. Laat de plaat op het magnetische scheidingsapparaat liggen. Wacht 1 minuut. Verwijder resterende vloeistof met een pipet. Droog de Mag-Bind® HDQ-deeltjes nog eens 10 minuten. Ga verder met stap 23.

23. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

24. Voeg 100-200 µl elutiebuffer of nucleasevrij water toe om DNA uit de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te elueren.

    Opmerking: verwarm de elutiebuffer of het nucleasevrije water tot 70 °C om de resultaten te verbeteren.

25. Plaats gedurende 5 minuten in de vortexer om te mengen.

    Opmerking: als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 5 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 1-2 minuten voor 15 seconden in de vortexer gedurende 5 minuten.

26. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

27. Breng de gescheiden supernatante vloeistof met het gezuiverde DNA over naar een microplaat met 96 wells (niet meegeleverd). Bewaar DNA bij -20 °C.

Protocol voor celculturen

Dit protocol is ontworpen voor snelle isolatie van maximaal 25 µg genomisch DNA uit maximaal 5 x 10^6 celculturen.

Belangrijk: als deze procedure automatisch wordt uitgevoerd in een vloeistofverwerker of magnetische verwerker, neem dan contact op met uw vertegenwoordiger van Omega Bio-tek voor instrumentspecifieke instructies.

Door de gebruiker te leveren materialen en apparatuur:

- Magnetisch scheidingsapparaat (aanbevolen: Alpaqua Magnum™ EX, onderdeelnr. A000380)
- Vortexer
- Centrifuge met rotor met zwenkende bekers en een vermogen van 4000 *g*
- Schuddend waterbad dat kan worden ingesteld op 55 °C
- Microplaat met 96 wells (500 µl) of gewenste elutieplaat
- Platen met 96 diepe wells van 2 ml (aanbevolen: Nunc, onderdeelnr. 278752) of gewenste plaat die compatibel is met het magnetisch scheidingsapparaat
- Pipetten met meerdere kanalen en reagensreservoirs
- Koude PBS (4 °C)
- 100% ethanol
- 100% isopropanol
- Nucleasevrij water
- Optioneel: RNase A (10 mg/ml)
- Optioneel: warmteblok, incubator of waterbad met een vermogen van 70 °C
- Optioneel: trypsine en een celschraper

Voordat u begint:

- Bereid SPM-buffer, VHB-buffer en HDQ-bindingsbuffer volgens het gedeelte "Reagentia voorbereiden" op pagina 5.
- Stel het schuddende waterbad in op 55 °C.
- Optioneel: stel waterbad, incubator of warmteblok in op 70 °C.

1. Bereid de celsuspensie.

   1a. Ingevroren celmonsters dienen te worden ontdooid voordat dit protocol wordt gestart. Scheid de cellen aan de hand van centrifugatie. Was de cellen met koude PBS (4 °C) en resuspendeer de cellen in 180 µl koude PBS. Ga verder met stap 2 van dit protocol.

   1b. In het geval van cellen die in suspensie zijn gekweekt, scheidt u 5 x 10^6 cellen op 1200 *g* in een centrifugebuisje. Voer de supernatante vloeistof af, was de cellen eenmalig met koude PBS (4 °C) en resuspendeer de cellen in 180 µl koude PBS. Ga verder met stap 2 van dit protocol.

   1c. In het geval van cellen die in een monolaag zijn gekweekt, oogst u de cellen met een trypsinebehandeling of een celschraper. Was de cellen tweemaal met koude PBS (4 °C) en resuspendeer de cellen in 180 µl koude PBS. Ga verder met stap 2 van dit protocol.

2. Bereid een mastermix van alleen AL-buffer en proteïnase K-oplossing voor monsters die moeten worden geëxtraheerd volgens de onderstaande tabel:

Component	Hoeveelheid per preparaat	Totale hoeveelheid per plaat met 96 wells
AL-buffer	230 µl	24,3 ml*
Proteïnase K-oplossing	20 µl	2,1 ml*

* 10% extra volume is berekend voor een plaat met 96 wells.

   Belangrijk: bereid uitsluitend de hoeveelheid mastermix van AL-buffer/proteïnase K-oplossing die binnen 4 uur na bereiding zal worden gebruikt.

3. Voeg 250 µl mastermix van AL-buffer/proteïnase K-oplossing toe aan elk monster. Plaats gedurende 10 minuten in de vortexer om te mengen. Goed mengen is cruciaal voor goede resultaten.

   Opmerking:
   - bij geautomatiseerde protocollen levert mengen met tips de beste resultaten op en dit wordt aanbevolen.
   - Als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 10 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 2 minuten voor 30 seconden in de vortexer gedurende 10 minuten.

4. Incubeer bij 55 °C in een schuddend waterbad gedurende 10 minuten.

   Opmerking: als er geen schuddend waterbad beschikbaar is, plaats de monsters dan elke 2-3 minuten in de vortexer.

5. Breng de monsters over naar een plaat met 96 diepe wells (niet meegeleverd).

Optioneel: voeg 5 µl RNase A toe aan elk monster. Plaats in de vortexer om te mengen. Laat gedurende 2 minuten bij kamertemperatuur staan.

6. Voeg 320 µl HDQ-bindingsbuffer en 20 µl Mag-Bind® HDQ-deeltjes toe aan elk monster. Plaats gedurende 10 minuten in de vortexer om te mengen.

   Opmerking:
   - HDQ-bindingsbuffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% isopropanol. Zie pagina 5 voor instructies. HDQ-bindingsbuffer en Mag-Bind® HDQ-deeltjes kunnen worden bereid als mastermix. Bereid uitsluitend de benodigde hoeveelheid voor iedere cyclus.
   - Als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 10 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 2 minuten voor 30 seconden in de vortexer gedurende 10 minuten.

7. Plaats de plaat op een magnetisch scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

8. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

9. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

10. Voeg 600 µl VHB-buffer toe aan elk monster.

    Opmerking: VHB-buffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% ethanol. Zie pagina 5 voor instructies.

11. Plaats 15 seconden in de vortexer om te mengen.

    Opmerking: volledige resuspensie van de Mag-Bind® HDQ-deeltjes is cruciaal om een goede zuiverheid te verkrijgen.

12. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

13. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

14. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

15. Herhaal stap 10-14 voor een tweede VHB-bufferstap.

16. Voeg 600 µl SPM-buffer toe aan elk monster.

    Opmerking: SPM-buffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% ethanol. Zie pagina 5 voor instructies.

17. Plaats 15 seconden in de vortexer om te mengen.

18. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

19. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

20. Kies een van de volgende stappen voor het verwijderen van ethanol:

    A. Laat de plaat op het magnetische scheidingsapparaat liggen. Voeg 500 µl nucleasevrij water (niet meegeleverd) toe, laat gedurende 20-30 seconden op de magneet staan en aspireer vervolgens. Laat het nucleasevrije water niet langer dan 60 seconden bij de Mag-Bind® HDQ-deeltjes. Ga verder met stap 21.

    OF

    B. Laat de plaat op het magnetische scheidingsapparaat liggen. Wacht 1 minuut. Verwijder resterende vloeistof met een pipet. Droog de Mag-Bind® HDQ-deeltjes nog eens 10 minuten. Ga verder met stap 21.

21. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

22. Voeg 50-200 µl elutiebuffer of nucleasevrij water toe om DNA uit de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te elueren.

    Opmerking: verwarm de elutiebuffer of het nucleasevrije water tot 70 °C om de resultaten te verbeteren.

23. Plaats gedurende 5 minuten in de vortexer om te mengen.

    Opmerking: als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 5 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 1-2 minuten voor 15 seconden in de vortexer gedurende 5 minuten.

24. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

25. Breng de gescheiden supernatante vloeistof met het gezuiverde DNA over naar een microplaat met 96 wells (niet meegeleverd). Bewaar DNA bij -20 °C.

Protocol voor speeksel

Belangrijk: als deze procedure automatisch wordt uitgevoerd in een vloeistofverwerker of magnetische verwerker, neem dan contact op met uw vertegenwoordiger van Omega Bio-tek voor instrumentspecifieke instructies.

Door de gebruiker te leveren materialen en apparatuur:

- Magnetisch scheidingsapparaat (aanbevolen: Alpaqua Magnum™ EX, onderdeelnr. A000380)
- Vortexer
- Schuddend waterbad dat kan worden ingesteld op 55 °C
- Microplaat met 96 wells (500 µl) of gewenste elutieplaat
- Platen met 96 diepe wells van 2 ml (aanbevolen: Nunc, onderdeelnr. 278752) of gewenste plaat die compatibel is met het magnetisch scheidingsapparaat
- Pipetten met meerdere kanalen en reagensreservoirs
- 100% ethanol
- 100% isopropanol
- Nucleasevrij water
- Optioneel: RNase A (10 mg/ml)
- Optioneel: warmteblok, incubator of waterbad met een vermogen van 70 °C

Voordat u begint:

- Bereid SPM-buffer, VHB-buffer en HDQ-bindingsbuffer volgens het gedeelte "Reagentia voorbereiden" op pagina 5.
- Stel het schuddende waterbad in op 55 °C.
- Optioneel: stel waterbad, incubator of warmteblok in op 70 °C.

1. Centrifugeer het buisje met speeksel op 2000 *g* gedurende 5 minuten.

2. Breng 500 µl gestabiliseerde speekselmonsters (bijv. DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrica® DNAgard® Saliva) over naar een plaat met 96 diepe wells (niet meegeleverd).

3. Bereid een mastermix van alleen AL-buffer en proteïnase K-oplossing voor monsters die moeten worden geëxtraheerd volgens de onderstaande tabel:

Component	Hoeveelheid per preparaat	Totale hoeveelheid per plaat met 96 wells
AL-buffer	200 µl	21,12 ml*
Proteïnase K-oplossing	20 µl	2,1 ml*

* 10% extra volume is berekend voor een plaat met 96 wells.

Belangrijk: bereid uitsluitend de hoeveelheid mastermix van AL-buffer/proteïnase K-oplossing die binnen 4 uur na bereiding zal worden gebruikt.

4. Voeg 220 µl AL-buffer/proteïnase K-oplossing toe aan elk monster. Plaats gedurende 10 minuten in de vortexer om te mengen. Goed mengen is cruciaal voor goede resultaten.

   Opmerking:
   - bij geautomatiseerde protocollen levert mengen met tips de beste resultaten op en dit wordt aanbevolen.
   - Als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 10 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 2 minuten voor 30 seconden in de vortexer gedurende 10 minuten.

5. Incubeer bij 55 °C in een schuddend waterbad gedurende 10 minuten.

   Opmerking: als er geen schuddend waterbad beschikbaar is, plaats de plaat dan elke 2-3 minuten in de vortexer. Als een DNA Genotek Oragene®-buisje is gebruikt en de incubatiestap al is uitgevoerd, slaat u stap 6 over.

Optioneel: voeg 5 µl RNase A toe aan elk monster. Plaats in de vortexer om te mengen. Laat gedurende 2 minuten bij kamertemperatuur staan.

6. Voeg 400 µl HDQ-bindingsbuffer en 20 µl Mag-Bind® HDQ-deeltjes toe aan elk monster. Plaats gedurende 10 minuten in de vortexer om te mengen.

   Opmerking:
   - HDQ-bindingsbuffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% isopropanol. Zie pagina 5 voor instructies. HDQ-bindingsbuffer en Mag-Bind® HDQ-deeltjes kunnen worden bereid als mastermix. Bereid uitsluitend de benodigde hoeveelheid voor iedere cyclus.
   - Als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 10 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 2 minuten voor 30 seconden in de vortexer gedurende 10 minuten.

7. Plaats de plaat op een magnetisch scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

8. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

9. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

10. Voeg 600 µl VHB-buffer toe aan elk monster.

    Opmerking: VHB-buffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% ethanol. Zie pagina 5 voor instructies.

11. Plaats 15 seconden in de vortexer om te mengen.

    Opmerking: volledige resuspensie van de Mag-Bind® HDQ-deeltjes is cruciaal om een goede zuiverheid te verkrijgen.

12. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

13. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

14. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

15. Herhaal stap 10-14 voor een tweede VHB-bufferstap.

16. Voeg 600 µl SPM-buffer toe aan elk monster.

    Opmerking: SPM-buffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% ethanol. Zie pagina 5 voor instructies.

17. Plaats 15 seconden in de vortexer om te mengen.

18. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

19. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

20. Kies een van de volgende stappen voor het verwijderen van ethanol:

    A. Laat de plaat op het magnetische scheidingsapparaat liggen. Voeg 500 µl nucleasevrij water (niet meegeleverd) toe, laat gedurende 20-30 seconden op de magneet staan en aspireer vervolgens. Laat het nucleasevrije water niet langer dan 60 seconden bij de Mag-Bind® HDQ-deeltjes. Ga verder met stap 21.

    OF

    B. Laat de plaat op het magnetische scheidingsapparaat liggen. Wacht 1 minuut. Verwijder resterende vloeistof met een pipet. Droog de Mag-Bind® HDQ-deeltjes nog eens 10 minuten. Ga verder met stap 21.

21. Voeg 100-200 µl elutiebuffer of nucleasevrij water toe om DNA uit de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te elueren.

    Opmerking: verwarm de elutiebuffer of het nucleasevrije water tot 70 °C om de resultaten te verbeteren.

22. Plaats gedurende 5 minuten in de vortexer om te mengen.

    Opmerking: als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 5 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 1-2 minuten voor 15 seconden in de vortexer gedurende 5 minuten.

23. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

24. Breng de gescheiden supernatante vloeistof met het gezuiverde DNA over naar een microplaat met 96 wells (niet meegeleverd). Bewaar DNA bij -20 °C.

Protocol voor monduitstrijkjes

Belangrijk: als deze procedure automatisch wordt uitgevoerd in een vloeistofverwerker of magnetische verwerker, neem dan contact op met uw vertegenwoordiger van Omega Bio-tek voor instrumentspecifieke instructies.

Door de gebruiker te leveren materialen en apparatuur:

- Magnetisch scheidingsapparaat (aanbevolen: Alpaqua Magnum™ EX, onderdeelnr. A000380)
- Vortexer
- Centrifuge met rotor met zwenkende bekers en een vermogen van 4000 *g*
- Centrifuge-adapter voor platen met 96 wells
- Schuddend waterbad dat kan worden ingesteld op 55 °C
- Microplaat met 96 wells (500 µl) of gewenste elutieplaat
- Platen met 96 diepe wells van 2 ml (aanbevolen: Nunc, onderdeelnr. 278752) of gewenste plaat die compatibel is met het magnetisch scheidingsapparaat
- Pipetten met meerdere kanalen en reagensreservoirs
- 100% ethanol
- 100% isopropanol
- Optioneel: RNase A (10 mg/ml)
- Optioneel: nucleasevrij water
- Optioneel: warmteblok, incubator of waterbad met een vermogen van 70 °C

Voordat u begint:

- Bereid SPM-buffer, VHB-buffer en HDQ-bindingsbuffer volgens het gedeelte "Reagentia voorbereiden" op pagina 5.
- Stel het schuddende waterbad in op 55 °C.
- Optioneel: stel waterbad, incubator of warmteblok in op 70 °C.

1. Knip het uiteinde van het kwastje of staafje en plaats ieder uiteinde in een well van een plaat met 96 diepe wells (niet meegeleverd).
2. Bereid een mastermix van alleen AL-buffer, proteïnase K-oplossing en elutiebuffer voor monsters die moeten worden geëxtraheerd volgens de onderstaande tabel:

Component	Hoeveelheid per preparaat	Totale hoeveelheid per plaat met 96 wells
AL-buffer	290 µl	30,6 ml*
Proteïnase K-oplossing	20 µl	2,1 ml*
Elutiebuffer	250 µl	26,4 ml

* 10% extra volume is berekend voor een plaat met 96 wells.

Belangrijk: bereid uitsluitend de hoeveelheid mastermix van AL-buffer/proteïnase K-oplossing/elutiebuffer die binnen 4 uur na bereiding zal worden gebruikt.

3. Voeg 560 µl mastermix van AL-buffer/proteïnase K-oplossing/elutiebuffer toe aan elk monster. Plaats in de vortexer of pipetteer 20 keer op en neer om te mengen.

   Opmerking: bij geautomatiseerde protocollen levert mengen met tips de beste resultaten op en dit wordt aanbevolen.

4. Incubeer bij 55 °C in een schuddend waterbad gedurende 10 minuten.

   Opmerking: als er geen schuddend waterbad beschikbaar is, plaats de plaat dan elke 2-3 minuten in de vortexer.

5. Centrifugeer op 3000 *g* gedurende 2 minuten.

6. Breng 500 µl lysaat over naar een nieuwe plaat met 96 diepe wells. Breng de staafjes niet over naar de nieuwe plaat.

Optioneel: voeg 5 µl RNase A toe aan elk monster. Plaats in de vortexer om te mengen. Laat gedurende 2 minuten bij kamertemperatuur staan.

7. Voeg 350 µl HDQ-bindingsbuffer en 20 µl Mag-Bind® HDQ-deeltjes toe aan elk monster. Plaats gedurende 10 minuten in de vortexer om te mengen.

   Opmerking:
   - HDQ-bindingsbuffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% isopropanol. Zie pagina 5 voor instructies. HDQ-bindingsbuffer en Mag-Bind® HDQ-deeltjes kunnen worden bereid als mastermix. Bereid uitsluitend de benodigde hoeveelheid voor iedere cyclus.
   - Als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 10 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 2 minuten voor 30 seconden in de vortexer gedurende 10 minuten.

8. Plaats de plaat op een magnetisch scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

9. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

10. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

11. Voeg 600 µl VHB-buffer toe aan elk monster.

    Opmerking: VHB-buffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% ethanol. Zie pagina 5 voor instructies.

12. Plaats 15 seconden in de vortexer om te mengen.

    Opmerking: volledige resuspensie van de Mag-Bind® HDQ-deeltjes is cruciaal om een goede zuiverheid te verkrijgen.

13. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

14. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

15. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

16. Herhaal stap 11-15 voor een tweede VHB-bufferstap.

17. Voeg 600 µl SPM-buffer toe aan elk monster.

    Opmerking: SPM-buffer moet voorafgaand aan gebruik worden verdund met 100% ethanol. Zie pagina 5 voor instructies.

18. Plaats 15 seconden in de vortexer om te mengen.

19. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

20. Aspireer de gescheiden supernatante vloeistof en voer het af. Verstoor de Mag-Bind® HDQ-deeltjes niet.

21. Laat de plaat gedurende 10 minuten op het magnetische scheidingsapparaat staan om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes aan de lucht te laten drogen. Verwijder eventuele resterende vloeistof uit de wells.

    Opmerking: alle vloeistof moet tijdens deze stap worden geaspireerd. Het is handig om alle vloeistof uit de well te verwijderen, één minuut te wachten en vervolgens eventuele resterende vloeistof uit de well te verwijderen.

22. Verwijder de plaat met de Mag-Bind® HDQ-deeltjes van het magnetische scheidingsapparaat.

23. Voeg 100-200 µl elutiebuffer of nucleasevrij water (niet meegeleverd) toe om DNA uit de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te elueren.

    Opmerking: verwarm de elutiebuffer of het nucleasevrije water tot 70 °C om de resultaten te verbeteren.

24. Plaats gedurende 5 minuten in de vortexer om te mengen.

    Opmerking: als voortdurend mengen in de vortexer gedurende 5 minuten niet mogelijk is, plaats dan elke 1-2 minuten voor 15 seconden in de vortexer gedurende 5 minuten.

25. Plaats de plaat op het magnetische scheidingsapparaat om de Mag-Bind® HDQ-deeltjes te magnetiseren. Laat staan bij kamertemperatuur totdat de Mag-Bind® HDQ-deeltjes volledig uit de oplossing zijn verwijderd.

26. Breng de gescheiden supernatante vloeistof met het gezuiverde DNA over naar een microplaat met 96 wells (niet meegeleverd). Bewaar DNA bij -20 °C.

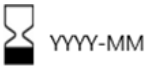
Contactinformatie

Om benodigdheden bij te bestellen, een apparaatstoring te melden of een klacht in te dienen, kunt u contact opnemen met:

	**Fabrikant** Omega Bio-tek, Inc. 400 Pinnacle Way Suite #450 Norcross, GA 30071, USA Website: www.omegabiotek.com E-mail: info@omegabiotek.com SRN: US-MF-000024148
	**Gemachtigde vertegenwoordiger in de EU** QbD RepS BV Groenenborgerlaan 16 2610 Wilrijk Belgium SRN: BE-AR-000000040
	**Zwitserland Gemachtigde vertegenwoordiger** Qarad Suisse S.A. World Trade Center Avenue Gratta-Paille 2 1018 Lausanne Switzerland CHRN: CHRN-AR-20002058
Verenigd Koninkrijk	**Gemachtigde vertegenwoordiger Verenigd Koninkrijk** QbD RepS UK Ltd Waterside, Unit 33 Schooner Court, 44-48 Wharf Road, London N1 7UX Verenigd Koninkrijk
Thailand	Thailand Gemachtigde Vertegenwoordiger Asia Actual (Thailand) Co.,Ltd. 8 T-One Building, Room No. 15-102, 15th Floor, Soi Sukhumvit 40, Sukhumvit Road, Phra Khanong, Khlong Toei, Bangkok 10110 Thailand Tel. 02-8215998

Symbolen

De volgende symbolen kunnen in de gebruiksinstructies of op de verpakking en etikettering worden gebruikt:

Afbeelding	Beschrijving
	Beschadigde verpakking (niet gebruiken als de verpakking is beschadigd)
	Gemachtigde vertegenwoordiger in de EU
	Zwitserland Gemachtigde vertegenwoordiger
	Uiterste gebruiksdatum
	Temperatuurbereik voor langetermijnopslag
	Controleer de componenten voor de opslagomstandigheden
	Partijnummer
	Referentie-, onderdeel- of catalogusnummer
	Serienummer
	Aantal
	Let op
	Instructies voor gebruik
	Conformiteitsmerk
	Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnostiek

Symbolen

UDI	Unieke apparaatidentificatie
	Fabrikant
No GHS	Geen extra gevaren of niet geclassificeerd als gevaarlijk volgens GHS
	Website
	Telefoon
	Fax
	E-mail
	LinkedIn
	Twitter
	Facebook
Recycling	Voor informatie over recycling, bezoek www.omegabiotek.com/company/recycling

Revisiegeschiedenis

Revisie	Beschrijving
v1.4, November 2026	Toegevoegd informatie over de gemachtigde vertegenwoordiger van Thailand.
v1.3, Juni 2026	Informatie over recycling toegevoegd en de naam en het adres van de bevoegde vertegenwoordiger in het VK bijgewerkt.
v1.2, April 2025	Update naam en adres voor de EC-vertegenwoordiger en voeg informatie toe voor de VK-vertegenwoordiger
v1.1, Juli 2023	Informatie over de geautoriseerde vertegenwoordiger van Zwitserland toegevoegd
v1.0, December 2022	Oorspronkelijke publicatie

Verklaringen en disclaimers

REACH-openbaarmaking

Voor gebruik in de Europese Unie.

AL-buffer bevat Triton X-100, 2-[4-(2,4,4-trimethylpentaan-2-yl)fenoxy]ethanol (CAS 9002-93-1), een stof op de Europese lijst met autorisatieplichtige stoffen (Bijlage XIV) van REACH-verordening (EG) nr. 1907/2006. Stoffen en mengsels die worden gebruikt voor wetenschappelijk onderzoek en ontwikkeling zijn vrijgesteld van de autorisatievereisten indien het gebruikte volume minder dan 1 ton per jaar is.

Onder wetenschappelijk onderzoek en ontwikkeling vallen experimenteel onderzoek of analyse onder laboratoriumomstandigheden, zoals synthese en testen van toepassingen van chemicaliën, vrijgavetests, etc. en het gebruik van de stof bij bewaking en routinematige kwaliteitscontrole of in vitro diagnostiek.

Handelsmerken en licenties

Mag-Bind®, HiBind®, E.Z.N.A.®, en MicroElute® zijn geregistreerde handelsmerken van Omega Bio-tek, Inc.
DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrica® DNAgard® Saliva zijn handelsmerken van hun respectievelijke bedrijven.
PCR is een gepatenteerd proces van Hoffman-La Roche. Voor het gebruik van het PCR-proces is een licentie vereist.