

## MAGFLO™ PCR

### Magnetische Beads für die PCR-Aufreinigung



## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Verwendung der MAGFLO PCR magnetischen Beads</b>	<b>2</b>
1.1 Verwendungszweck	2
1.2 In diesem Dokument verwendete Symbole	2
1.3 Sicherheitshinweise	3
1.4 Was sich im MAGFLO PCR-Reagenz befindet	4
<b>2. Anwendung von MAGFLO PCR magnetischen Beads</b>	<b>4</b>
2.1 Einführung in die PCR-Aufreinigung	5
<b>3. Bevor Sie beginnen</b>	<b>6</b>
3.1 Versand, Lagerung und Handhabung von Reagenzien	6
3.2 Qualitätskontrolle	6
3.3 Zusätzliche Materialien und Reagenzien	6
3.4 Reagenzien vorbereiten	7
<b>4. Protokoll</b>	<b>8</b>
4.1 PCR-Aufreinigung	8
<b>5. Anleitung zur Fehlerbehebung</b>	<b>9</b>
<b>6. Benutzereinblicke in INTEGRAs Benchtop-Pipettierlösungen</b>	<b>10</b>
6.1 Hochdurchsatzlösungen für MAGFLO PCR magnetische Beads	10
<b>7. Bestellinformationen</b>	<b>11</b>
<b>8. Impressum</b>	<b>11</b>


## 1. Verwendung von MAGFLO PCR für die PCR-Aufreinigung


### 1.1 Verwendungszweck

MAGFLO PCR magnetische Beads sind **ausschließlich** für den **Forschungsgebrauch (RUO)** in der molekularbiologischen Forschung bestimmt. Sie sind nicht für die Diagnose von Krankheiten oder anderen medizinischen Zuständen bestimmt oder validiert. Sie sind für die manuelle Anwendung oder das automatisierte Liquid-Handling in molekularbiologischen Anwendungen konzipiert.






### 1.2 In diesem Dokument verwendete Symbole

In der Gebrauchsanweisung wird mit dem folgenden Symbol ausdrücklich auf Restrisiken hingewiesen:

 **Warnung:** Dieses Sicherheitssymbol warnt vor Gefahren, die zu einer Körperverletzung führen könnten. Außerdem weist es auf Materialien und an der Umgebung führen könnten. Es ist unerlässlich, dass Sie den entsprechenden

 **Hinweis:** Dieses Symbol bezeichnet wichtige Hinweise in Bezug auf die korrekte Verwendung des Reagenzes sowie arbeitssparende Merkmale.


**Tabelle 1:** Symbole auf der Verpackung von MAGFLO PCR magnetischen Beads.

	QR-Code für Gebrauchsanweisung und SDS-Zugang
	Grenzwert der Lagertemperatur
	Verfallsdatum
	Losnummer
	Herstellerangaben

### 1.3 Sicherheitshinweise

Bitte lesen Sie das Sicherheitsdatenblatt (SDS) für alle Sicherheits- und Entsorgungsinformationen. Dieses kann über den QR-Code auf der Verpackung aufgerufen werden.

 **Hinweis:** Laut Sicherheitsdatenblatt sind die MAGFLO NGS magnetischen Beads nicht als Gefahrstoff eingestuft; daher gibt es keine Sicherheitshinweise zur Vorbeugung oder Reaktion in Bezug auf dieses Produkt.

 **Warnung:** Befolgen Sie stets die in Ihrer Einrichtung geltenden Verfahren und allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen. Tragen Sie bei der Arbeit mit Chemikalien Einweghandschuhe, eine Schutzbrille, einen Laborkittel usw.

## 1.4 Was sich im MAGFLO PCR-Reagenz befindet

MAGFLO PCR magnetische Beads bestehen aus superparamagnetischen Partikeln in einem Bindungspuffer.



**Hinweis:** Lesen Sie die Anweisungen sorgfältig durch, bevor Sie das Kit verwenden.



**Hinweis:** Bitte beachten Sie die örtlichen Abfallvorschriften für eine sichere Entsorgung.

## 2. Anwendung der MAGFLO PCR magnetischen Beads

MAGFLO PCR magnetische Beads bieten eine effektive Lösung für die Aufreinigung von Amplicons während der PCR-Reinigung. Die gereinigten Nukleinsäuren werden mit einem salzarmen Elutionspuffer oder mit Wasser in Molekularbiologiequalität eluiert und können direkt in Downstream-Anwendungen verwendet werden.

Das Protokoll kann einfach mit einem INTEGRA MAG-Modul-Magnetseparationsgerät durchgeführt werden, so dass die Platte nicht mehr manuell auf den Magneten aufgesetzt und davon abgenommen werden muss. MAG-Module verwenden vertikal bewegliche Magnetfelder, so dass die Platte während der Magnetisierungsschritte an einer Stelle bleibt. Arbeitsabläufe zur Aufreinigung mit magnetischen Beads können auch mit dem ASSIST PLUS-Pipettierroboter oder mit einer elektronischen VIAFLO 96- oder VIAFLO 384-Pipette für ein rationalisiertes Liquid-Handling automatisiert werden.

### Leistungsmerkmale

- Entwickelt für DNA-Amplicons.
- Hohe Rückgewinnung von Amplicons größer als 100 bp während der PCR-Reinigung.
- Entfernt effizient überschüssige Primer, Primer-Dimere, nicht inkorporierte Nukleotide, Salze und Enzyme.
- Kein Zentrifugations- oder Filtrationsschritt erforderlich.

### Probeneingangsanforderungen

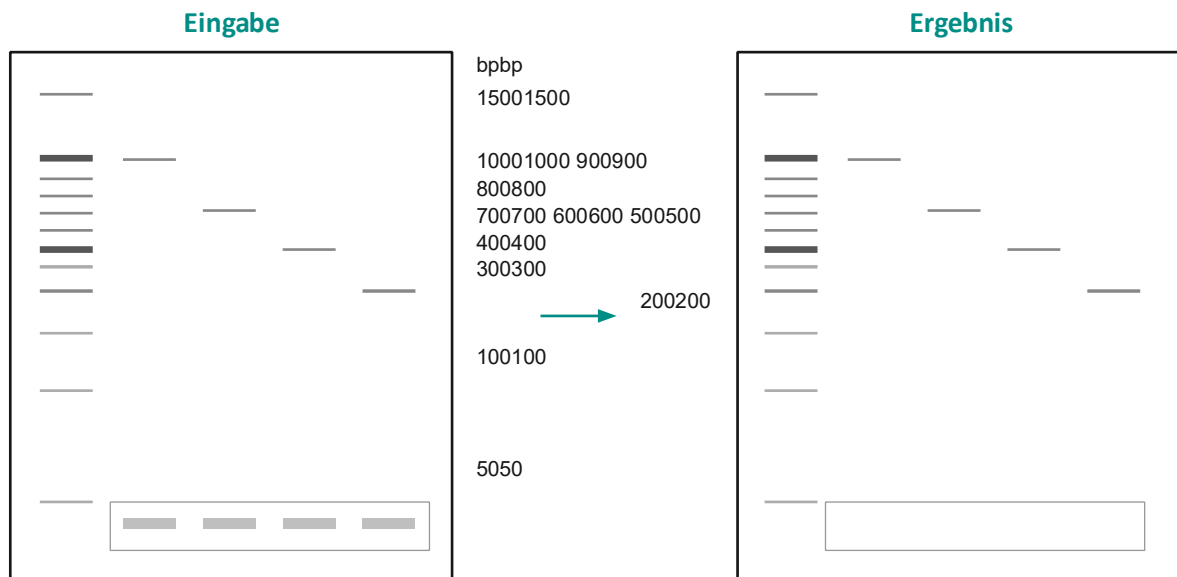
- Die Proben sollten ein doppelsträngiges DNA-Amplicon enthalten.

### Die Nukleinsäurefragmente können für die folgenden Downstream-Anwendungen verwendet werden

- PCR/qPCR/ddPCR
- Mutationsnachweis und Genotypisierung
- Protokolle für die Sanger-Sequenzierung
- Fragment-Analyse
- Mikroarrays
- Enzymatische Reaktionen
- Klonen
- Transfektionsversuche
- Ligation

## 2.1 Einführung in die PCR-Aufreinigung

MAGFLO PCR magnetische Beads bieten eine zuverlässige Aufreinigung von PCR-Amplicons bei einem spezifischen Bead-zu-Probe-Verhältnis von 1,8. Die magnetischen Beads binden selektiv DNA-Fragmente, die größer als 100 bp sind. Der PCR-Aufreinigungsprozess umfasst drei einfache Schritte – Binden, Waschen und Eluieren –, während derer die magnetischen Beads die DNA-Fragmente von  $\geq 100$  bp binden und dabei überschüssige Primer, Primer-Dimere, nicht inkorporierte Nukleotide, Salze und Enzyme eliminieren. Die interessierenden Fragmente werden dann in einem Elutionspuffer wiedergewonnen (**Abbildung 1**).



**Abbildung 1:** Schematischer Überblick über den PCR-Aufreinigungsprozess, illustriert mit einer DNA-Leiter. Während dieses Prozesses werden kleine Fragmente, die Primer und/oder Primer-Dimere (unter 100 bp) darstellen, entfernt, und Amplicons unterschiedlicher Größe isoliert.

## 3. Bevor Sie beginnen

### 3.1 Versand, Lagerung und Handhabung von Reagenzien

MAGFLO PCR magnetische Beads sind beim Versand bei Umgebungstemperaturen stabil, können aber nicht eingefroren werden. Die empfohlene Lagertemperatur beträgt 2–8 °C. Bringen Sie das Produkt vor der Verwendung auf Raumtemperatur (RT).



**Hinweis:** MAGFLO PCR magnetische Beads können nicht mehr verwendet werden, wenn sie eingefroren wurden.



**Hinweis:** Verwenden Sie das Produkt nicht mehr nach dem auf dem Etikett angegebenen.

### 3.2 Qualitätskontrolle

MAGFLO PCR magnetische Beads werden nach vorgegebenen und validierten Protokollen im Rahmen des Qualitätsmanagementsystems hergestellt. Zusätzlich wird nach der Produktion jeder Charge eine Qualitätskontrolle durchgeführt. Dies wird in der Konformitätsbescheinigung dokumentiert, um eine gleichbleibende Produktqualität zu gewährleisten.



**Hinweis:** Die Konformitätsbescheinigung ist auf Anfrage erhältlich. Bitte wenden Sie sich an Ihren regionalen INTEGRA-Vertriebsmitarbeiter.

### 3.3 Zusätzliche Materialien und Reagenzien

Die Materialien und Reagenzien sind vom Benutzer bereitzustellen.

#### Ausrüstung

- Magnetische Trennvorrichtung (z. B. INTEGRA MAG/HEATMAG-Modul)
- Pipetten (manuell oder elektronisch)
- Ein Liquid-Handling-System (z. B. ASSIST PLUS, VIAFLO 96 oder VIAFLO 384)



**Hinweis:** Wir empfehlen die Verwendung von ASSIST PLUS mit integriertem MAG/HEATMAG-Modul für eine vollständige Walkaway-Aufreinigung mit magnetischen Beads. Bei diesem Setup integriert und automatisiert die Software den Schritt der magnetischen Trennung vollständig, indem sie die Auf- und Abwärtsbewegung des Magnet-Arrays steuert.



**Hinweis:** Wir empfehlen die Kombination des VIAFLO 96 oder VIAFLO 384 mit einem MAG/HEATMAG-Modul für Halbautomatische magnetische Trennung ohne Transfer von Laborgeräten. Bei diesem Setup erfolgt die magnetische Trennung vollautomatisch durch Auf- und Abbewegen des Magnet-Arrays.



**Hinweis:** Wir empfehlen die Verwendung von elektronischen VIAFLO-Mehrkanalpipetten oder manuellen EVOLVE-Pipetten mit einem Standalone MAG/HEATMAG-Modul für manuelle Arbeitsabläufe. Bei diesem Setup erfolgt die magnetische Trennung vollautomatisch durch Auf- und Abbewegen des Magnet-Arrays.

## Verbrauchsmaterial

- Quell-Laborgeräte Ihrer Wahl, z. B. eine 96- oder 384-Well-Mikrotiterplatte, 8-Well-PCR-Streifen oder Mikrozentrifugenröhrchen
- Ziel-Laborgeräte Ihrer Wahl, z. B. eine 96- oder 384-Well-Mikrotiterplatte, 8-Well-PCR-Streifen oder Mikrozentrifugenröhrchen
- Pipettenspitzen
- Reagenz-Reservoirs



**Hinweis:** Wir empfehlen die Bio-Rad Hard-Shell® 96-Well-PCR-Platte (HSP9601) für optimale Leistung. INTEGRA Deep-Well-Platten (6535) werden für das zuverlässige Pipettieren von Reagenzien auf INTEGRA Liquid-Handling-Systemen empfohlen oder für Reaktionsvolumen das Volumen der PCR-Platte übersteigt. Zusätzlich empfehlen wir sterile Filter-GRIPTIPS® für die Handhabung der im Protokoll verwendeten Reagenzien.

## Reagenzien

- 70%-iges Ethanol (frisch hergestellt aus unvergälltem Alkohol) für die Waschschriffe
- Molekularbiologisches Wasser (DNase-frei) oder Elutionspuffer (10 mM Tris-HCl, pH 8,0) für den Elutionsschritt



**Hinweis:** Es ist wichtig, jedes Mal eine frische Lösung aus 80%-igem Ethanol herzustellen. Die Aufbewahrung der Lösung vor der Verwendung kann sich negativ auf die Wirksamkeit der Waschschriffe und die Ergebnisse auswirken.

## 3.4 Reagenzien vorbereiten

- Stellen Sie sicher, dass Sie das 70%-ige Ethanol vor der Verwendung frisch zubereiten.
- Bringen Sie die MAGFLO PCR magnetischen Beads auf RT und schütteln Sie sie gründlich, um die Magnetpartikel vor der Verwendung vollständig zu resuspendieren.

## 4. Protokoll

### 4.1 PCR-Aufreinigung

Das mitgelieferte Protokoll gilt für 96- oder 384-Well-Plattenformate, Mikrozentrifugenröhrchen und 2,2 ml Deep-Well-Platten.

1. Verwenden Sie ein 1,8-faches Bead-zu-Probe-Verhältnis für die PCR-Reinigung.
2. Bringen Sie die MAGFLO PCR magnetischen Beads auf RT und schütteln Sie sie gründlich, um die Magnetpartikel vor der Verwendung vollständig zu resuspendieren.
3. Messen Sie das Reaktionsvolumen der Probe(n) und bestimmen Sie, ob es notwendig ist, die Probe(n) in eine geeignete Verarbeitungsplatte oder ein geeignetes Röhrchen zu überführen.
4. Geben Sie das 1,8-fache Reaktionsvolumen der MAGFLO PCR magnetischen Beads in jedes Well. Ein Beispiel für das jeweilige Bead-Volumen findet sich in **Tabelle 2** unten.

**Volumen der Eingangsprobe × Verhältnis = Volumen der magnetischen Beads**

**Beispiel: 50 µl × 1,8 = 90 µl magnetische Beads**

5. 5–20 Mal auf- und abpipettieren oder 30 Sekunden lang vortexen, bis die Lösung homogen erscheint.
6. 5 Minuten bei RT inkubieren.
7. Schalten Sie den Magneten ein und trennen Sie die magnetischen Beads. Bei RT inkubieren, bis die Lösung vollständig von den magnetischen Beads befreit ist und sich das Bead-Pellet gebildet hat.
8. Saugen Sie den gereinigten Überstand ab und werfen Sie ihn. Stören Sie das Pellet der magnetischen Beads nicht.
9. Geben Sie die entsprechende Menge frisches 70%-iges Ethanol wie folgt in jedes Well:  
30 µl für eine 384-Well-Platte, 200 µl für eine 96-Well-Platte, 500–1000 µl für ein Mikrozentrifugenröhrchen oder eine Deep-Well-Platte
10. 1 Minute bei RT inkubieren, ohne das Pellet zu resuspendieren.
11. Saugen Sie den gereinigten Überstand ab und werfen Sie ihn. Stören Sie das Pellet der magnetischen Beads nicht.
12. Wiederholen Sie die Schritte 9–11, um einen zweiten Waschschrift mit 70%-igem Ethanol durchzuführen.
13. Entfernen Sie bei eingeschaltetem Magneten alle Flüssigkeitsreste und lassen Sie die magnetischen Beads 3–15 Minuten lang an der Luft trocknen. Stellen Sie sicher, dass alle Flüssigkeitsreste entfernt werden.
14. Schalten Sie den Magneten aus und geben Sie das entsprechende Volumen – zwischen 10 und 100 µl – molekularbiologischen Wassers oder Elutionspuffers in jedes Well (z. B. 10 µl Probe und 10 µl Elutionsvolumen entsprechen einer 1:1-Verdünnung).
15. 20–30 Mal auf- und abpipettieren oder 30 Sekunden lang vortexen, bis die Lösung homogen erscheint.
16. 5 Minuten bei RT inkubieren.
17. Schalten Sie den Magneten ein und trennen Sie die magnetischen Beads. Bei RT inkubieren, bis die Lösung vollständig von magnetischen Beads befreit ist.
18. Überführen Sie den gereinigten Überstand, der die gereinigte DNA enthält, in eine neue Platte oder ein neues Röhrchen, und lagern Sie die Eluate bei 2–8 °C für eine kurzfristige Lagerung oder bei -20 °C für eine langfristige Lagerung.

**Tabelle 2:** Volumina für ein 1,8-faches MAGFLO PCR-zu-Probe-Verhältnis.

MÖGLICHE LABORGERÄTE	PCR-REAKTIONSVOLUMEN (µl)	VOLUMEN DER MAGNETISCHEN BEADS (µl)
96-Well-PCR-Platte	10	18
	20	36
	50	90
384-Well-PCR-Platte	5	9
	7	12,6
	10	18
Mikrozentrifugenröhrchen	50	90
	100	180
	150	270



## 5. Anleitung zur Fehlerbehebung

Mit diesem Leitfaden können Sie einige bekannte Probleme beheben, die auftreten können. Wenden Sie sich an Ihren regionalen INTEGRA-Vertriebsmitarbeiter oder Anwendungsspezialisten vor Ort, um weitere Unterstützung zu erhalten.

**Tabelle 3:** Anleitung zur Fehlerbehebung.

PROBLEM	URSACHE	LÖSUNG
Geringer Ertrag	Ineffiziente PCR-Reaktion	Erhöhen Sie die Anzahl der Amplifikationszyklen für die PCR und/oder optimieren Sie die PCR-Reaktion weiter.
	Kleinere Produktgröße (bp)	Kleine DNA-Fragmente ergeben normalerweise eine geringere Ausbeute.
	Interferenzen durch Ethanolrückstände	Entfernen Sie während des Trocknungsschritts jegliche Flüssigkeit vom Boden des Wells. Achten Sie darauf, frisches 70%-iges Ethanol zu verwenden.
	Verlust von magnetischen Beads während des Verfahrens	Erhöhen Sie die Magnetisierungszeit. Langsam aspirieren. Achten Sie darauf, dass die Platte bzw. das Röhrchen gut auf den Magneten passt.
	DNA bleibt an magnetischen Beads gebunden	Verhindern Sie eine Übertrocknung der Partikel und/oder erhöhen Sie das Elutionsvolumen.
	Unvollständige Resuspension der magnetischen Beads während der Elution	Vortexen oder pipettieren Sie auf und ab, um die Partikel vollständig zu resuspendieren. Erhöhen Sie die Anzahl der Mischzyklen. Um die Ausbeute zu erhöhen, können Sie den Elutionspuffer vor der Verwendung auch auf 65 °C erhitzen. Reduzieren Sie die Trocknungszeit, um ein Übertrocknen der Beads zu vermeiden.
Primer-Verschleppung	Unzureichendes Waschen der magnetischen Beads	Waschen Sie die magnetischen Beads ein weiteres Mal mit 70%-igem Ethanol. Achten Sie darauf, dass Sie frisch zubereitetes Ethanol verwenden.
Unspezifische Amplifikationsprodukte wurden nicht entfernt	Die Größe der unspezifischen Amplifikationsprodukte ist größer als 100 bp	Unspezifische Amplifikationsprodukte, die größer als 100 bp sind, werden mit dem Standardprotokoll (1,8-faches Verhältnis) nicht effizient aus den PCR-Produkten entfernt. Es könnte eine Optimierung des Verhältnisses von Beads zu Proben erforderlich sein.
Probleme bei Downstream-Anwendungen	Salz-Verschleppung	70%-iges Ethanol muss bei RT gelagert werden.
	Ethanol-Verschleppung	Vergewissern Sie sich, dass alle Ethanolspuren nach jedem Ethanolwaschgang entfernt werden und die magnetischen Beads vor der Elution vollständig trocken sind. Achten Sie darauf, frisches 70%-iges Ethanol zu verwenden.

## 6. Benutzereinblicke in INTEGRAs Benchtop-Pipettierlösungen

### 6.1 Hochdurchsatzlösungen für MAGFLO PCR magnetische Beads

Wenn Sie eine komplette Probenplatte bearbeiten möchten, wenden Sie bitte das Workflow-Setup an, in dem eine elektronische Handpipette VIAFLO 96 oder VIAFLO 384 mit einem Magnetseparationsmodul (MAG/HEATMAG) kombiniert wird. Ein detailliertes Skript mit optimierten Pipettierparametern steht in den Anwendungshinweisen auf unserer Website zum Download bereit.



**Hinweis:** Wenn Sie das Programm ändern möchten, lesen Sie bitte die Anleitung zum Ändern von Probeneingabe und Elutionsvolumen bei der PCR-Aufreinigung auf VIAFLO 96 und VIAFLO 384, erhältlich auf Anfrage bei Ihrem regionalen INTEGRA-Vertriebsmitarbeiter.



**Hinweis:** Die Skripte für die PCR-Reinigung mit einer elektronischen Handpipette VIAFLO 96 oder VIAFLO 384, ausgestattet mit dem 125- $\mu$ l oder 300- $\mu$ l-96-Kanal-Pipettierkopf, sind im manuellen und automatischen Modus erhältlich.



## 7. Bestellinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, wenden Sie sich an Ihren regionalen INTEGRA-Vertriebsmitarbeiter.

**Tabelle 4:** Verfügbare Artikelnummern für MAGFLO PCR magnetische Beads.

ARTIKELNUMMER	BESCHREIBUNG	ANZAHL DER REAKTIONEN FÜR DIE PCR-REINIGUNG*
7010	MAGFLO PCR magnetische Beads, 1 ml	~ 55
7012	MAGFLO PCR magnetische Beads, 50 ml	~ 2.777
7014	MAGFLO PCR magnetische Beads, 500 ml	~ 27.777

\*Die Anzahl der Reaktionen basiert auf einem PCR-Reaktionsvolumen von 10 µl. Für die PCR-Produktaufreinigung mit einem Verhältnis von Beads zu Proben von

1,8x beträgt das Volumen der pro Reaktion zu verwendenden magnetischen Beads  $10 \times 1,8 = 18 \mu\text{l}$

## 8. Impressum

Urheberrecht © 2024 durch INTEGRA Biosciences AG.

Alle Rechte an dieser Dokumentation sind vorbehalten. Insbesondere die Rechte der Vervielfältigung, Bearbeitung, Übersetzung und der Darstellungsform liegen bei der INTEGRA Biosciences AG. Weder die gesamte Dokumentation noch Teile davon dürfen ohne schriftliche Genehmigung der INTEGRA Biosciences AG in irgendeiner Weise reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme gespeichert oder verarbeitet oder in sonstiger Weise verbreitet werden.

Es wurden alle Anstrengungen unternommen, um in diesem Handbuch vollständige und genaue Informationen bereitzustellen. Obwohl dieses Handbuch einen speziell gekennzeichneten Garantiehinweis für das Produkt enthalten sollte, gibt INTEGRA Biosciences AG keine Zusicherungen oder Garantien in Bezug auf den Inhalt dieses Handbuchs und behält sich das Recht vor, dieses Handbuch ohne Vorankündigung zu ändern, wenn und sobald Verbesserungen vorgenommen werden.

INTEGRA Biosciences AG haftet nicht für Verluste, Schäden, Reparaturkosten, Neben- oder Folgeschäden jeglicher Art, die im Zusammenhang mit dem Design, der Entwicklung, der Installation oder dem Gebrauch der Produkte entstehen, unabhängig davon, ob diese auf einer ausdrücklichen oder stillschweigenden Garantie, einem Vertrag, einer Unterlassung oder einer verschuldensunabhängigen Haftung beruhen.

INTEGRA Biosciences AG ist bestrebt, zuverlässige und genaue Daten und Dokumentationen zu liefern. Sollten Sie eine Unstimmigkeit feststellen, sind wir für Ihre Mithilfe dankbar und bitten Sie, uns eine E-Mail an [info@integra-biosciences.com](mailto:info@integra-biosciences.com) zu senden.

Diese Betriebsanleitung hat die Artikelnummer 137963, die Version ist V00.



### Hersteller und Kundendienst

Hergestellt für INTEGRA Biosciences AG von CleanNA BV (Coenecoop 75, 2741 PH Waddinxveen, Niederlande). Informationen zu Ihrer lokalen INTEGRA Biosciences-Vertretung sowie weitere Informationen und diese Gebrauchsanweisung in anderen Sprachen erhalten Sie unter [www.integra-biosciences.com](http://www.integra-biosciences.com) oder per E-Mail-Anfrage an [info@integra-biosciences.com](mailto:info@integra-biosciences.com).

#### INTEGRA Biosciences AG

Tardisstrasse 201  
CH-7205 Zizers, Schweiz  
T +41 81 286 95 30

[info-ch@integra-biosciences.com](mailto:info-ch@integra-biosciences.com)

#### INTEGRA Biosciences Ltd

2 Rivermead Business Park  
Thatcham, Berks, RG19 4EP, Vereinigtes Königreich  
T +44 1635 797 00

[info-uk@integra-biosciences.com](mailto:info-uk@integra-biosciences.com)