

## MAGFLO™ NGS

# Magnetische Beads für die NGS-Größenauswahl



## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Verwendung der MAGFLO NGS magnetischen Beads</b>	<b>3</b>
1.1 Verwendungszweck	3
1.2 In diesem Dokument verwendete Symbole	3
1.3 Sicherheitshinweise	3
1.4 Was sich im MAGFLO NGS-Reagenz befindet	4
<b>2. Anwendung der MAGFLO NGS magnetischen Beads</b>	<b>4</b>
2.1 Einführung in die ein- und doppelseitige NGS-Größenauswahl	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 Vorsichtsmaßnahmen zur Vermeidung von RNase-Kontamination	7
3.5 Reagenzien vorbereiten	7
<b>4. Protokoll</b>	<b>8</b>
4.1 Einseitige Größenauswahl	8
4.2 Doppelseitige Größenauswahl	9
<b>5. Anleitung zur Fehlerbehebung</b>	<b>10</b>
<b>6. Benutzereinsichten in INTEGRA Benchtop-Pipettierlösungen</b>	<b>11</b>
6.1 Walkaway-Lösungen für MAGFLO NGS magnetische Beads	11
<b>7. Bestellinformationen</b>	<b>12</b>
<b>8. Impressum</b>	<b>12</b>

## 1. Verwendung der INTEGRA magnetischen Beads für die NGS-Größenauswahl

### 1.1 Verwendungszweck

MAGFLO NGS 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 an der Umgebung führen könnten. Es ist unerlässlich, dass Sie den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen folgen.



**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 NGS 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 NGS-Reagenz befindet

MAGFLO NGS 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 NGS magnetischen Beads

MAGFLO NGS magnetische Beads bieten eine effektive Lösung für die Isolierung von Nukleinsäurefragmenten mit gleichmäßiger Größenverteilung, die für die Bibliotheksvorbereitung in Next Generation Sequencing (NGS)-Arbeitsabläufen entscheidend ist. Dazu gehören sowohl einseitige als auch doppelseitige Größenauswahlverfahren. MAGFLO NGS wird unter RNase-freien Bedingungen hergestellt, was die Aufreinigung von RNA und DNA ermöglicht. 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

- Konzipiert für die Aufreinigung von DNA und RNA.
- Die Verwendung eines präzisen Verhältnisses von Beads zu Proben ermöglicht ein effektives Targeting von Nukleinsäurefragmenten bestimmter Größe.
- Ideal für ein- und doppelseitige Größenauswahlschritte bei der Vorbereitung von NGS-Bibliotheken.
- Kein Zentrifugations- oder Filtrationsschritt erforderlich.

### Probeneingangsanforderungen

- Die Proben sollten fragmentierte doppelsträngige DNA oder RNA enthalten.
- Für die beste Leistung bei der doppelseitigen Größenauswahl:
- Das optimale Probenvolumen beträgt  $\geq 50 \mu\text{l}$ . Geringere Volumina könnten die Genauigkeit beim Pipettieren von Beads verringern und die Variabilität erhöhen.
- Die gewünschte Fragmentgröße sollte zwischen 100 und 1000 bp liegen.
- Das Verhältnis der linken Seite muss größer sein als das Verhältnis der rechten Seite.

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

- NGS- und Sanger-Sequenzierungsprotokolle
- PCR/qPCR/ddPCR
- Mutationsnachweis und Genotypisierung
- Fragment-Analyse
- Mikroarrays
- Enzymatische Reaktionen
- Klonen
- Transfektionsversuche
- Ligation

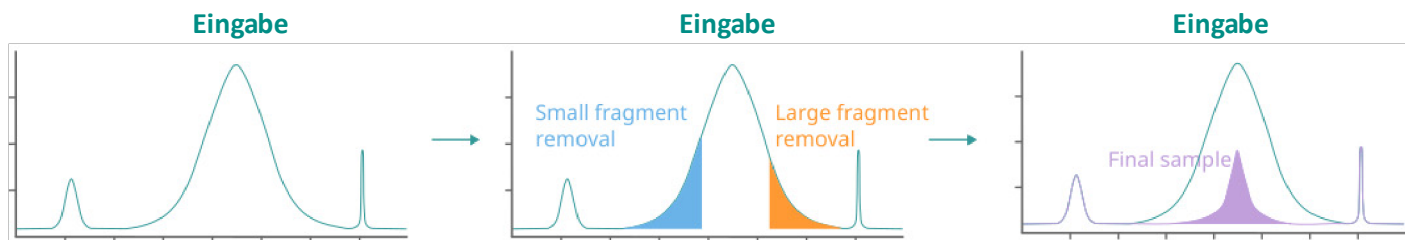
## 2.1 Einführung in die einseitige und doppelseitige NGS-Größenauswahl

Bibliotheks vorbereitungs kits enthalten in der Regel Protokolle, in denen die Verhältnisse (Volumina) der magnetischen Beads angegeben sind, die zur selektiven Bindung und Reinigung von DNA-Fragmenten der gewünschten durchschnittlichen Basenpaargröße (bp) verwendet werden sollen. MAGFLO NGS magnetische Beads zeichnen sich durch ein einziges Verhältnis von magnetischen Beads zu Proben bei der einfachen Größenauswahl und zwei spezifischen Verhältnissen bei der doppelseitigen Größenauswahl aus. Diese Verhältnisse sind in **Tabelle 2** bzw. **3** zu finden.

Die **doppelseitige Größenauswahl** besteht aus einer rechtsseitigen einfachen Größenauswahl (die zuerst durchgeführt wird), gefolgt von einer linksseitigen Größenauswahl (die als zweite durchgeführt wird) (**Abbildung 1**).

**Rechtsseitige, einfache Größenauswahl (Entfernung großer Fragmente):** Die erste Zugabe von magnetischen Beads bindet Nukleinsäurefragmente, die größer sind als die angestrebte Durchschnittsgröße. Durch das Einschalten des Magneten werden die Beads dann gesammelt und der Überstand – der DNA-Fragmente der Zielgröße und kleiner enthält – wird durch Überführen in ein anderes Well wiedergewonnen (**Abbildung 1**).

**Linksseitige, einfache Größenauswahl (Entfernung kleiner Fragmente):** Die zweite Zugabe von magnetischen Beads bindet Fragmente der angestrebten Durchschnittsgröße. Durch Einschalten des Magneten werden die Beads gesammelt, und der Überstand – der die kleineren DNA-Fragmente enthält – wird entfernt. Durch ein einfaches Waschverfahren werden anschließend die restlichen Verunreinigungen entfernt. Fragmente von Interesse lassen sich durch Lösen des Magneten leicht eluieren und werden nach einer weiteren Trennung wiedergewonnen (**Abbildung 1**).



**Abbildung 1:** Schematischer Überblick über die Größenauswahlverfahren.

## 3. Bevor Sie beginnen

### 3.1 Versand, Lagerung und Handhabung von Reagenzien

MAGFLO NGS magnetische Beads sind während des Versands bei Raumtemperatur 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 NGS 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 NGS 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

- 80%-iges Ethanol (frisch hergestellt aus unvergälltem Alkohol) für die Waschschriffe
- Wasser von molekularbiologischer Qualität (DNase- und RNase-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 Vorkehrungen zur Vermeidung einer RNase-Kontamination

Für RNA-Anwendungen ist es wichtig, RNase-frei zu arbeiten. Die häufigsten Quellen für RNasen sind Hände und Staubpartikel sowie kontaminierte Laborlösungen, Geräte und Glaswaren. Es sollten Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um das Einschleppen von RNasen bei der Arbeit mit RNA zu vermeiden.

### Empfohlene Vorsichtsmaßnahmen

- Tragen Sie beim Umgang mit RNA-Proben immer Handschuhe. Wechseln Sie Ihre Handschuhe häufig, um eine Kontamination zu vermeiden.
- Stellen Sie sicher, dass Sie beim Pipettieren RNase-freie Filterspitzen verwenden.
- Verwenden Sie Einweg-Verbrauchsmaterialien, die garantiert RNase-frei sind.
- Verwenden Sie Reagenzien, die garantiert RNase-frei sind. Die Herstellung von Aliquoten aus Puffern verringert das Risiko einer RNase-Kontamination in Puffern, Reagenzien usw.
- Vermeiden Sie die Verwendung von Reagenzien, Verbrauchsmaterialien und Geräten, die für den allgemeinen Gebrauch oder allgemeine Laborprozesse bestimmt sind.
- Wenn möglich, arbeiten Sie in einem separaten Raum, Abzug oder Labor.
- Reinigen Sie alle Arbeitsflächen vor Beginn Ihrer Arbeit mit einem handelsüblichen RNase-hemmenden Tensid oder 80%-igem Ethanol.



**Hinweis:** Alle INTEGRA-Verbrauchsmaterialien – einschließlich Spitzen und Reservoirs – sind als RNase-frei zertifiziert.

## 3.5 Reagenzien vorbereiten

- Stellen Sie sicher, dass Sie das 80%-ige Ethanol vor der Verwendung frisch zubereiten.
- Bringen Sie die MAGFLO NGS magnetischen Beads auf RT und schütteln Sie sie gründlich, um die Magnetpartikel vor der Verwendung vollständig zu resuspendieren.

## 4. Protokolle

### 4.1 Einseitige Größenauswahl

Das mitgelieferte Protokoll gilt für 96- oder 384-Well-Plattenformate und Mikrozentrifugenröhrchen.

1. Wählen Sie das Magnetbead-Verhältnis (z. B. 1,8x-Verhältnis für die PCR-Reinigung) für Ihren Größenauswahlschritt gemäß Tabelle 2.
2. Bringen Sie die MAGFLO NGS 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 die gewünschte Menge MAGFLO NGS magnetische Beads in jedes Well. Für die PCR-Reinigung geben Sie das 1,8-fache Reaktionsvolumen der MAGFLO NGS magnetischen Beads in jedes Well. Ein Beispiel für das jeweilige Beadvolumen gibt es in Tabelle 2.

$$\text{Volumen der Eingangsprobe} \times \text{Verhältnis} = \text{Volumen der magnetischen Beads}$$

**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, um die magnetischen Beads zu trennen. 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 80%-iges Ethanol wie folgt in jedes Well:
10. 30 µl für eine 384-Well-Platte, 125–180 µl für eine 96-Well-Platte, 500–1000 µl für ein Mikrozentrifugenröhrchen.
11. 1 Minute bei RT inkubieren, ohne das Pellet zu resuspendieren.
12. Saugen Sie den gereinigten Überstand ab und werfen Sie ihn. Stören Sie das Pellet der magnetischen Beads nicht.
13. Wiederholen Sie die Schritte 9–11, um einen zweiten Waschschrift mit 80%-igem Ethanol durchzuführen.
14. 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.
15. 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).
16. 20–30 Mal auf- und abpipettieren oder 30 Sekunden lang vortexen, bis die Lösung homogen erscheint.
17. 3–5 Minuten bei RT inkubieren.
18. Schalten Sie den Magneten ein und trennen Sie die magnetischen Beads. Bei RT inkubieren, bis die Lösung vollständig von magnetischen Beads befreit ist.
19. Überführen Sie den gereinigten Überstand, der gereinigte DNA oder RNA enthält, in eine neue Platte oder ein neues Röhrchen und lagern Sie die Eluate bei 2–8 °C für eine kurzfristige Lagerung oder DNA bei -20 °C und RNA bei -80 °C für eine langfristige Lagerung.

**Tabelle 2:** Volumina für ein bestimmtes MAGFLO NGS-zu-Probe-Verhältnis.

MÖGLICHE LABORGERÄTE	VERHÄLTNIS 0,6X		VERHÄLTNIS 0,9X		VERHÄLTNIS 1,8X	
	REAKTIONSVOLUMEN (µl)	MAGNETISCHE BEADS VOLUMEN (µl)	REAKTIONSVOLUMEN (µl)	MAGNETISCHE BEADS VOLUMEN (µl)	REAKTIONSVOLUMEN (µl)	MAGNETISCHE BEADS VOLUMEN (µl)
96-Well-PCR-Platte	10	6	10	9	10	18
	20	12	20	18	20	36
	50	30	50	45	50	90
384-Well-PCR-Platte	5	3	5	4,5	5	9
	7	4,2	7	6,3	7	12,6
	10	6	10	9	10	18
Mikrozentrifugenröhrchen	50	30	50	45	50	90
	100	60	100	90	100	180
	150	90	150	135	150	270



## 4.2 Doppelseitige Größenauswahl

Das mitgelieferte Protokoll gilt für 96-Well-Plattenformate und Mikrozentrifugenröhrchen.

20. Wählen Sie ein Bead-zu-Probe-Verhältnis entsprechend dem gewünschten Nukleinsäurefragment von Interesse (**Tabelle 3**).
21. Bringen Sie die MAGFLO NGS magnetischen Beads auf RT und schütteln Sie sie gründlich, um die Magnetpartikel vor der Verwendung vollständig zu resuspendieren.
22. 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.
23. Geben Sie das gewünschte erste Volumen an magnetischen Beads in jedes Well (rechtsseitige Größenauswahl).

**Volumen der Ausgangsprobe × Verhältnis (rechts) = Volumen der magnetischen Beads**  
**Beispiel: 50 µl × 0,7 = 35 µl magnetische Beads**

24. 10–20 Mal auf- und abpipettieren oder 30 Sekunden lang vortexen, bis die Lösung homogen erscheint.
25. 5 Minuten bei RT inkubieren.
26. Schalten Sie den Magneten ein und trennen Sie die magnetischen Beads. Bei RT inkubieren, bis die magnetischen Beads vollständig aus der Lösung entfernt sind.
27. Überführen Sie den gereinigten Überstand – der kleine und interessierende Fragmente enthält – in ein neues Well.
28. Schalten Sie den Magneten aus und geben Sie das gewünschte zweite Volumen an magnetischen Beads in jedes Well (linksseitige Größenauswahl).

**Volumen der Ausgangsprobe × ((Verhältnis (links) - Verhältnis (rechts)) = Volumen der magnetischen Beads**  
**Beispiel: 50 µl × (0,8-0,7) = 5 µl magnetische Beads**

29. 5–15 Mal auf- und abpipettieren oder 30 Sekunden lang vortexen, bis die Lösung homogen erscheint.
30. 5 Minuten bei RT inkubieren.
31. Schalten Sie den Magneten ein und trennen Sie die magnetischen Beads. Bei RT inkubieren, bis die magnetischen Beads vollständig aus der Lösung entfernt sind.
32. Saugen Sie den gereinigten Überstand ab und werfen Sie ihn. Stören Sie das Pellet der magnetischen Beads nicht.
33. Geben Sie das entsprechende Volumen an frischem 80%-igem Ethanol wie folgt in jedes Well:  
125–180 µl für eine 96-Well-Platte oder 500–1000 µl für ein Mikrozentrifugenröhrchen.
34. 1 Minute bei RT inkubieren, ohne zu resuspendieren.
35. Saugen Sie den gereinigten Überstand ab und werfen Sie ihn. Stören Sie die magnetischen Beads nicht.
36. Wiederholen Sie die Schritte 14–16, um einen zweiten Waschschriff mit 80%-igem Ethanol durchzuführen.
37. 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.
38. 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).
39. 20 Mal auf- und abpipettieren oder 30 Sekunden lang vortexen, bis die Lösung homogen erscheint.
40. 3–5 Minuten bei RT inkubieren.
41. Schalten Sie den Magneten ein und trennen Sie die magnetischen Beads. Bei RT inkubieren, bis sich die Lösung vollständig von den magnetischen Beads gelöst hat.
42. Überführen Sie den gereinigten Überstand, der gereinigte DNA oder RNA enthält, in eine neue Platte oder ein neues Röhrchen und lagern Sie die Eluate bei 2–8 °C für eine kurzfristige Lagerung oder DNA bei -20 °C und RNA bei -80 °C für eine langfristige Lagerung.

**Tabelle 3:** MAGFLO NGS-zu-Probe-Verhältnisse, die für die beidseitige Größenauswahl verwendet werden.

BP-ZIELREGION	VERWENDETES VERHÄLTNIS (RECHTS/LINKS)
180–1300	0,50/0,90
200–700	0,56/0,85
220–530	0,70/0,80
235–660	0,61/0,80
265–575	0,64/0,77
280–535	0,67/0,75

## 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 4:** Anleitung zur Fehlerbehebung.

PROBLEM	URSACHE	LÖSUNG
Geringer Ertrag	Unzureichende Eingangs-DNA oder ineffiziente PCR-Reaktion	Erhöhen Sie die eingegebene DNA-Menge oder die Anzahl der Amplifikationszyklen für die PCR und/oder optimieren Sie die PCR-Reaktion weiter.
	Kleinere Produktgröße (bp)	Kleine DNA- oder RNA-Fragmente liefern in der Regel eine geringere Ausbeute.
	Interferenzen durch Ethanolrückstände	Entfernen Sie während des Trocknungsschritts jegliche Flüssigkeit vom Boden des Wells. Achten Sie darauf, dass Sie frisches 80%-iges Ethanol 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 oder RNA bleibt an Partikel 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.
	RNA-Abbau	Vermeiden Sie eine RNase-Kontamination, um einen RNA-Verlust zu verhindern.
Primer-Verschleppung	Unzureichendes Waschen der magnetischen Beads	Waschen Sie die magnetischen Beads ein weiteres Mal mit 80%-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.
Die beidseitige Größenauswahl entspricht nicht dem erwarteten Ergebnis Größe des DNA-Fragments	Ausgewählte DNA-Fragmente sind zu klein	Das Verhältnis der MAGFLO NGS magnetischen Beads zum Probenvolumen war zu hoch. Versuchen Sie, während der Größenauswahl weniger magnetische Beads hinzuzufügen, um größere DNA-Fragmente zu erhalten.
	Ausgewählte DNA-Fragmente sind zu groß	Das Verhältnis der MAGFLO NGS magnetischen Beads zum Probenvolumen war zu gering. Versuchen Sie, während der Größenauswahl mehr magnetische Beads hinzuzufügen, um kleinere DNA-Fragmente zu erhalten.
	Kontamination größerer DNA-Fragmente nach Größenauswahl	Dies kann durch Verschleppung von magnetischen Beads aus dem ersten Bindungsschritt in den zweiten verursacht werden. Vermeiden Sie den Transfer von magnetischen Beads nach dem ersten Bindungsschritt.
Probleme bei Downstream-Anwendungen	Salz-Verschleppung	80%-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, dass Sie frisches 80%-iges Ethanol verwenden.

## 6. Benutzereinblicke in INTEGRAs Benchtop-Pipettierlösungen

### 6.1 Walkaway-Lösungen für MAGFLO NGS magnetische Beads

Wenn Sie an einem Walkaway-Arbeitsablauf interessiert sind, sehen Sie sich bitte den automatisierten Arbeitsablauf des ASSIST PLUS mit integriertem Magnetseparationsmodul (MAG/HEATMAG) an. Ein detailliertes Skript mit optimierten Pipettierparametern steht in den Anwendungshinweisen auf unserer Website zum Download bereit.



**Hinweis:** Wenn Sie das Skript ändern möchten, lesen Sie bitte die Anleitung zur Größenauswahl in ASSIST PLUS – Ändern von Proben- Nummerneingabe und Elutionsvolumen in VIALAB – erhältlich auf Anfrage bei Ihrem regionalen INTEGRA-Vertriebsmitarbeiter.



## 7. Bestellinformationen

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

**Tabelle 5:** Verfügbare Artikelnummern für MAGFLO NGS magnetische Beads.

ARTIKELNUMMER	BESCHREIBUNG	ANZAHL DER REAKTIONEN BEI EINSEITIGER GRÖSSENAUSWAHL *	ANZAHL DER REAKTIONEN BEI DOPPELSEITIGER GRÖSSENAUSWAHL **
7000	MAGFLO NGS magnetische Beads, 1 ml	~ 55	~ 25
7002	MAGFLO NGS Magnetische Beads, 50 ml	~ 2.777	~ 1.250
7004	MAGFLO NGS Magnetische Beads, 500 ml	~ 27.777	~ 12.500

\*Die Anzahl der Reaktionen basiert auf einem Reaktionsvolumen von 10 µl (z. B. beträgt für die PCR-Produktaufreinigung mit einem Verhältnis von Beads zu Proben von 1,8x das Volumen der pro Reaktion zu verwendenden magnetischen Beads 10 x 1,8 = 18 µl).

\*\*Die Anzahl der Reaktionen basiert auf einem Reaktionsvolumen von 50 µl, wobei 40 µl magnetische Beads pro Reaktion verwendet werden.

## 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 137960, 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)