

MetaboPrep, versione LC Cod. 15-1001

Conservare in luogo asciutto al di sotto dei 25°C

Reagenti per l'estrazione la purificazione e la derivattizzazione del metaboloma da Siero, Plasma, Urine, Feci, Liquido Cerebro Spinale, Liquido amniotico, Tessuti animali e vegetali, Estratti vegetali.



PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

MetaboPrep-LC è un kit per l'estrazione, la purificazione e la derivattizzazione del metaboloma da campioni di sangue, siero, plasma, urina, feci, liquido cerebro spinale, liquido amniotico, tessuti animali e vegetali ed estratti vegetali. La versione LC è pensata appositamente per l'analisi in cromatografia liquida con rilevatore a spettrometria di massa.

CONTENUTO E COMPOSIZIONE

Ogni confezione contiene i reattivi necessari alla preparazione di 25 campioni, indipendentemente dalla matrice. Ogni confezione contiene:

- ✓ 25 tubi trasparenti contenente la miscela di estrazione e lo standard interno.
 - ✓ 25 tubi color giallo contenente la miscela di purificazione e lo standard interno.
 - ✓ 25 vials vuote in cui trasferire il metaboloma purificato per la liofilizzazione e la solubilizzazione in fase mobile.
 - ✓ 1 Vial da 2 mL contenente la fase mobile A concentrata 250X.
 - ✓ 1 Vial da 2 mL contenente la fase mobile B concentrata 250X.
 - ✓ 25 inserti da 150 µL per l'iniezione tramite autocampionatore.
- Preparare la fase mobile A diluendo il contenuto della vial con il tappo blu "Fase mobile A 250X" in 250 mL di Acqua per LCMS.
- Preparare la fase mobile B diluendo il contenuto della vial con il tappo blu "Fase mobile B 250X" in 250 mL di Acetonitrile per LCMS.

CONSERVAZIONE

Conservare a temperatura inferiore ai 25°C. I reagenti se ben tappati e conservati a temperatura controllata sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Ogni lotto viene sottoposto a controllo qualità e i parametri dichiarati sono garantiti solo per kit conservati in condizioni opportune e non contaminati.

APPARECCHIATURE NECESSARIE

- ✓ Centrifuga refrigerata con rotore per Eppendorf®
- ✓ Liofilizzatore con termostato a -55 °C oppure essiccatore a flusso di Azoto
- ✓ Bagno ad ultrasuoni (solo per i tessuti)
- ✓ Vortex

PROCEDURE

Campioni di urina, liquido cerebrospinale, e liquido amniotico, estratti vegetali

I campioni di urina e liquido amniotico prima dell'estrazione devono essere sottoposti a centrifugazione per eliminare eventuali precipitati e materiali in sospensione. Generalmente 5 minuti a 16000 rpm sono sufficienti.

1. Aggiungere 100 µL di campione al tubo color giallo e agitare su vortex per 30 secondi.
2. Centrifugare a 16000 rpm per 5 minuti a 4°C.
3. Trasferire 175 µL di sumatante nella vial di vetro e Liofilizzare overnight oppure essiccare a temperatura inferiore ai 37°C sotto flusso di azoto.
4. Aggiungere 50 µL della fase mobile A diluita 1:250.
5. Aggiungere 50 µL della fase mobile B diluita 1:250.
6. In caso di iniezione con autocampionatore trasferire il contenuto della vial nell'inserto e questo nella vial.

Campioni di siero, plasma, sangue intero

1. Aggiungere 50 µL di campione al tubo trasparente
2. Agitare su vortex per 30 minuti.
3. Centrifugare a 16000 rpm per 5 minuti a 4°C.
4. Prelevare 200 µL di sumatante e aggiungerli al tubo color giallo.
5. Agitare su vortex per 30 secondi.
6. Centrifugare a 16000 rpm per 5 minuti a 4°C.
7. Trasferire 175 µL di sumatante nella vial di vetro e liofilizzare overnight oppure essiccare a temperatura inferiore ai 37°C sotto flusso di azoto.
8. Aggiungere 50 µL della fase mobile A diluita 1:250.
9. Aggiungere 50 µL della fase mobile B diluita 1:250.
10. In caso di iniezione con autocampionatore trasferire il contenuto della vial nell'inserto e questo nella vial.

Campioni di tessuto

1. Omogenizzare e tritare finemente il tessuto (si consiglia di polverizzare il tessuto con mortaio di agata dopo averlo liofilizzato a -55°C).
2. Aggiungere 10 mg di campione al tubo trasparente.
3. Agitare su vortex per 30 minuti, quindi in bagno ad ultrasuoni a 37°C per altri 30 minuti.
4. Centrifugare a 16000 rpm per 5 minuti a 4°C.
5. Prelevare 200 µL di sumatante e aggiungerli al tubo color giallo.
6. Agitare su vortex per 30 secondi.
7. Centrifugare a 16000 rpm per 5 minuti a 4°C.
8. Trasferire 175 µL di sumatante nella vial di vetro e Liofilizzare overnight oppure essiccare a temperatura inferiore ai 37°C sotto flusso di azoto.
9. Aggiungere 50 µL della fase mobile A diluita 1:250.
10. Aggiungere 50 µL della fase mobile B diluita 1:250.
11. In caso di iniezione con autocampionatore trasferire il contenuto della vial nell'inserto e questo nella vial.

MetaboPrep, versione LC Cod. 15-1001

Conservare in luogo asciutto al di sotto dei 25°C

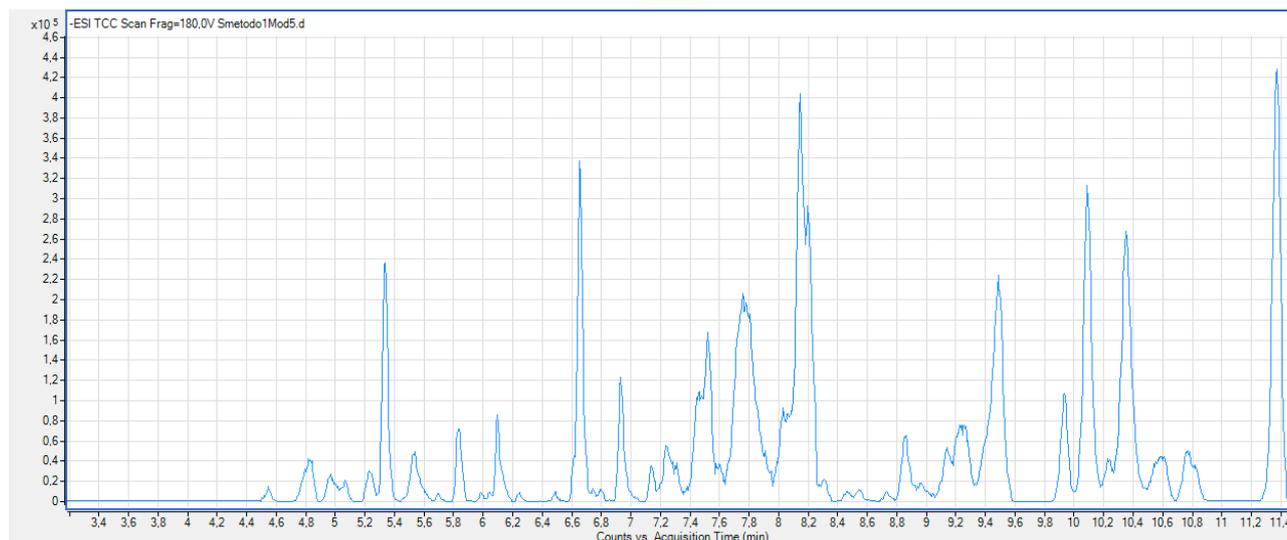
Reagenti per l'estrazione la purificazione e la derivatizzazione del metaboloma da Siero, Plasma, Urine, Feci, Liquido Cerebro Spinale, Liquido amniotico, Tessuti animali e vegetali, Estratti vegetali.



ANALISI CROMATOGRAFICA

Cromatogramma ottenuto da un campione di siero di ratto, estratto con metaboPrep.

Condizioni LC				
Flusso	Gradiente	Temperatura	Colonna	
0.4 mL/min	A 98% @0 min, A 98% @2 min, A 30% @5 min, A 2% @11 min, A 98% @18 min	25°C	"Tipo C18" 2.6µm 100Å, LC Column 50 x 2.1 mm	
Condizioni MS - QTOF				
Ionizzazione	Temp	Range di Massa	Velocità di acquisizione	Tempo di acquisizione
ESI, Fragmentator 180eV	Gas Temp @300°C	50-1500 amu	50 Hz	18 minuti



ULTERIORI INFORMAZIONI

Visita il sito www.theorosrl.com/MetaboPrep inserisci il codice sottoriportato e troverai altre informazioni su questo prodotto, in particolare:

1. Video illustrativi per l'esecuzione dell'estrazione, della purificazione e della derivatizzazione di campioni biologici mediante MetaboPrep;
2. Ogni lotto di MetaboPrep viene analizzato e certificato, dal sito potrai scaricare il tuo certificato;
3. Lavori scientifici pubblicati utilizzando il MetaboPrep.

CODICE DI ACCESSO AI CONTENUTI MULTIMEDIALI: 338ff59