



E Lysis Buffer

(Cat #10802)

Instruction pour une utilisation manuelle

ADEMTECH SA
Bioparc BioGalien
27, allée Charles Darwin
33600 PESSAC

France

Tel: +33557020201
Fax +3355702020

Site Web : www.ademtech.com

E Lysis Buffer

Introduction

1. Description

L'extraction différentielle (ED) est la méthode la plus courante de traitement des échantillons d'agression sexuelle, permettant la récupération simultanée de spermatozoïdes et de cellules épithéliales à partir d'un écouvillon ou de morceaux de tissu souillés. La séparation des spermatozoïdes des cellules épithéliales est réalisée en exploitant les différences membranaires cellulaires et leur sensibilité aux détergents. ED utilise de la protéinase K (PK) et un détergent anionique dans le tampon de lyse E pour lyser sélectivement les cellules épithéliales.

Les spermatozoïdes sont culotés par centrifugation, et le surnageant qui contient l'ADN des cellules épithéliales est éliminé. Le Crime Lysis Buffer et l'agent réducteur dithiothréitol (DTT) sont ajoutés au culot de spermatique pour la lyse, libérant l'ADN masculin. Les deux fractions sont ensuite utilisées pour d'autres analyses en aval dans le but d'obtenir les profils STR de l'auteur et de la victime.

La procédure E-lysis couplée au Crime Prep Adem-Kit a été développée pour purifier spécifiquement l'ADN spermatozoïde de l'ADN épithélial (ou de l'ADN non spermatozoïde).

2. Contenu du kit et conditions de conservation

Item	E-Lysis Buffer
Code Produit	10802
Format	1 x 48 samples
E-Lysis Buffer	22mL
Proteinase K (10mg/ml)	440µL

E Lysis Buffer (#10802)	
Réactifs	Conditions de stockage
E Lysis Buffer	+2-25°C
Proteinase K (10mg/ml)	+2-8°C

Storage conditions: The kits are shipped at room temperature.

NOTE 1! Les kits correctement stockés sont garantis jusqu'à la date d'expiration. Notez que l'expédition est réalisée à température ambiante et n'affectera pas la stabilité. Tous les composants du kit ont été préparés dans des conditions sans nucléases et ont été minutieusement testés pour garantir des performances optimales.

NOTE 2! Conditions de stockage

L'E-Lysis Buffer peut être conservé à température ambiante. La Protéinase K doit être impérativement conservée à + 2-8 ° C.

Pour plus de commodité, vous pouvez conserver l'ensemble du kit à + 2-8 ° C. Dans ce cas, avant d'utiliser le kit, il est recommandé de sortir les réactifs à l'avance et de vérifier s'il y a des précipités. Si le tampon de lyse E présente des précipités, placez-le à température ambiante et éventuellement à + 37 ° C.

1. Matériel et réactifs nécessaires non fournis

En cas de manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour éviter toute contamination de votre échantillon, il est recommandé de porter un masque.

Réactifs:

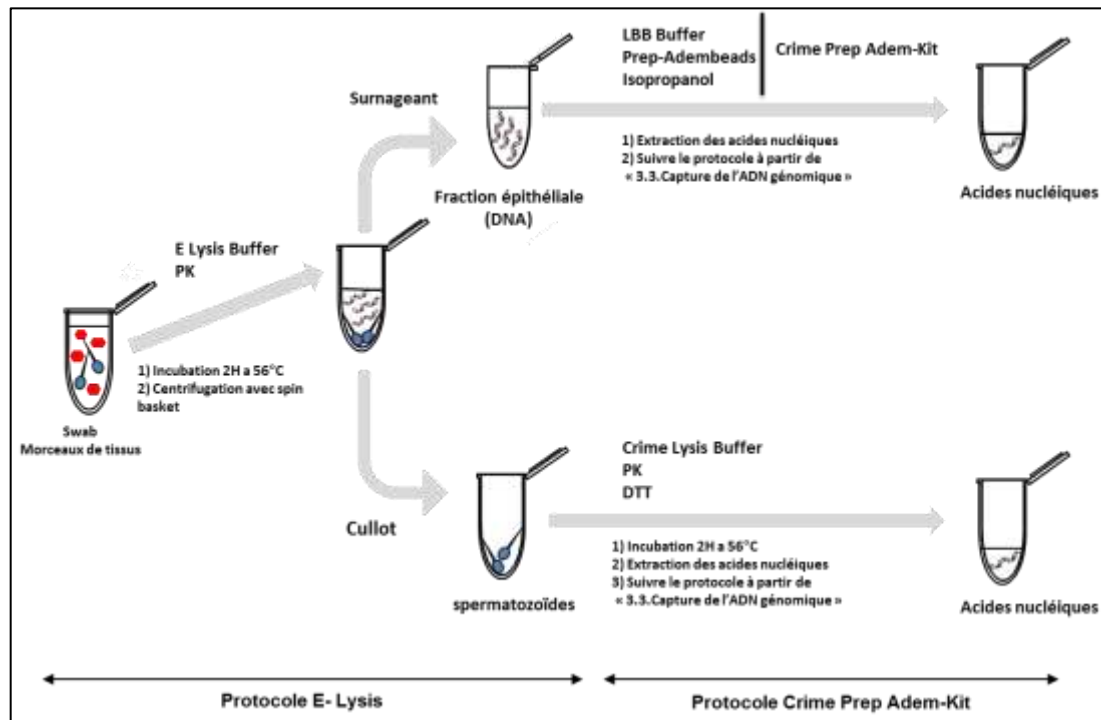
- PBS 1X ou eau physiologique

Matériels:

- Bloc chauffant, agitateur chauffant ou bains-marie à 56°C
- Microtubes
- Spin Baskets pour microtubes
- Centrifugeuse pour microtubes

Protocole de lyse différentiel

Protocole d'extraction différentiel:



1. Lyse des cellules épithéliales

1. Placer l'échantillon dans un microtube (casser la tige de l'écouvillon pour pouvoir fermer le microtube).
2. Ajouter **450µL de E-Lysis Buffer** au microtube contenant l'échantillon.
3. Ajouter **9µL de Protéinase K** au microtube contenant l'échantillon.
4. Fermer le tube, homogénéiser et le placer dans un thermomixer puis incubé à +56°C et 1000rpm pendant 2 heures.

E Lysis Buffer

NOTE! Il est recommandé de préparer une solution de lyse en mélangeant 450 µL de tampon E-Lysis et 9 µL de protéinase K par test.

E-Lysis Buffer	450µL	X nombre d'extractions
Protéinase K	9µL	

Dans ce cas, ajouter 459µL de solution de lyse aux microtubes contenant les échantillons.

IMPORTANT! Un bloc chauffant ou un bain-marie peuvent être utilisés si vous ne disposez pas d'un agitateur chauffant. Pour un rendement optimal, il est important de s'assurer que l'échantillon biologique est bien immergé dans la solution de lyse pendant l'étape d'incubation.

5. Après la lyse des cellules épithéliales, retirer l'échantillon et l'introduire dans un spin basket. Placer le spin basket sur le microtube contenant le lysat.
6. Centrifuger 5 minutes à 12.000rpm.
7. Jeter le spin basket contenant l'échantillon.
8. Transférer soigneusement le surnageant contenant l'ADN de cellules épithéliales dans un nouveau microtube (il est absolument nécessaire de ne pas perturber le culot contenant les spermatozoïdes). Conservez le microtube pour la lyse des spermatozoïdes suivante.
9. Réaliser une extraction d'ADN avec 400 µL de surnageant (fraction épithéliale). Reportez-vous à la notice du Crime Prep Adem-Kit (à partir de l'étape «Capture de l'ADN génomique»).

2. Récupération des cellules spermatiques

1. Resuspendre le culot spermatique dans 1mL de PBS 1X ou d'eau physiologique. Vortexer brièvement et centrifuger 5 minutes à 12.000rpm.
2. Jeter soigneusement le surnageant sans perturber le culot.
3. Laver le culot spermatique une seconde fois avec 1mL de PBS ou d'eau physiologique. Vortexer brièvement et centrifuger 5 minutes à 12.000rpm.
4. Jeter soigneusement le surnageant sans perturber le culot.
5. Effectuez la lyse des spermatozoïdes et l'extraction de l'ADN avec le Crime Prep Adem-kit. **Reportez-vous à la notice du Crime Prep Adem-Kit.**

Limitations

Ce produit est destiné uniquement à des fins de recherches.

Il incombe à l'utilisateur de valider la performance du produit pour toutes les procédures utilisées dans leur laboratoire et d'utiliser le produit en conformité avec toute réglementation applicable.

Les produits sont garantis à l'acheteur original seulement si les produits sont conformes aux spécifications du produit et si le contenu est conforme aux indications figurant sur les étiquettes des flacons et les étiquettes extérieures pour la date d'utilisation indiquée. L'obligation de la société Ademtech et le recours exclusif de l'acheteur sous cette garantie pour un défaut de fabrication du produit est limité soit au remplacement du produit aux frais de Ademtech, le produit est retourné à Ademtech, port payé, ou au gré d'Ademtech soit au remboursement limité aux prix d'achat. Les réclamations pour marchandises endommagées en transit doivent être présentées au transporteur.

Symboles



Code Produit



Numéro de lot du produit

Ce symbole est accompagné du numéro de lot du fabricant



Fabricant

Ce symbole s'accompagne du nom et de l'adresse du fabricant du produit



Date limite d'utilisation

Ce symbole s'accompagne de la date limite d'utilisation du produit



Contenu suffisant pour (n) tests

Le kit est prévu pour le nombre d'extraction indiqué dans le symbole.



Température de stockage

Les températures minimales et maximales sont indiquées au niveau de la barre horizontale.

Pour commander

- **Kits Ademtech**

N°.	PRODUIT	FORMAT
06211	Crime Prep Adem-Kit	10 x 96
06213	Crime Prep Adem-Kit	1 x 96
06212	Crime Prep Adem-Kit AutoMag Solution (prefilled reagents plates)	48 (4x12)
06140	Smart D-N-Adem-Kit for Profiling	1 x 100
10811	Bone Lysis Buffer	48

- **Instruments et consommables**

N°.	PRODUIT	FORMAT
20105	Adem-Mag MODULO Classic	1 Unité
20106	Adem-Mag 96	1 Unité
20108	Adem-Mag MODULO Brick	1 Unité
21101	AutoMag instrument	1 Unité
21102	Microtiter Deepwell 96 plate	50 pièces
21103	12-tip com for 96 Deepwell plate	50 pièces
21104	Elution Strip	40 pièces



E Lysis Buffer

(Cat #10802)

Instruction for manual protocol

ADEMTECH SA
Bioparc BioGalien
27, allée Charles Darwin
33600 PESSAC

France

Tel: +33557020201
Fax +3355702020

Visit our Web site: www.ademtech.com

E Lysis Buffer

Introduction

1. Description

Differential extraction (DE) is the most common method for processing sexual assault samples, allowing for the simultaneous recovery of sperm and epithelial cells from swab or soiled fabric pieces with the separation of sperm cells from epithelial cell DNA by exploiting the differences in the cell membrane susceptibility to detergents. DE uses proteinase K (PK) and an anionic detergent in the E-Lysis Buffer to selectively lyse the epithelial cells. The sperm cells are pelleted by centrifugation, and the supernatant which contains non-semen DNA is removed. Crime Lysis Buffer, and the reducing agent dithiothreitol (DTT), is added to the sperm pellet to lyse the sperm cells, releasing the male DNA. Both fractions are then used for further downstream analyses in an effort to obtain STR profiles of both the perpetrator and the victim.

The E-lysis procedure coupled with the Crime Prep Adem-Kit was developed to purify specially spermatozoid DNA mixed with epithelial DNA (or non sperm cell DNA).

2. Product Component and storage conditions

Item	E-Lysis Buffer
Cat No.	10802
Package size	1 x 48 samples
E-Lysis Buffer	22mL
Proteinase K (10mg/ml)	440µL

E Lysis Buffer (#10802)	
Reagents	Storage condition
E Lysis Buffer	+2-8°C
Proteinase K (10mg/ml)	+2-8°C

Storage conditions: The kits are shipped at room temperature.

NOTE 1! Properly stored Kits are guaranteed until the expiry date. Note that shipping is realized at room temperature and will not affect stability. All components of the kit have been prepared under nucleases free conditions and have been thoroughly tested to ensure optimal performance.

NOTE 2! Storage conditions

The E Lysis Buffer can be stored at room temperature. The Proteinase K has to be absolutely stored at +2-8°C.

For convenience, you can store the whole kit at +2-8°C. In this case, before using the kit, it is recommended to take out the reagents in advance and check if there are any precipitates. If the E-Lysis Buffer presents precipitates place it at room temperature and eventually put it at +37°C.

3. Equipment and reagents to be supplied by the user

When working with chemicals, always wear a suitable lab coat, disposable gloves, and protective goggles. To avoid contamination of your sample, wear face mask.

Reagents:

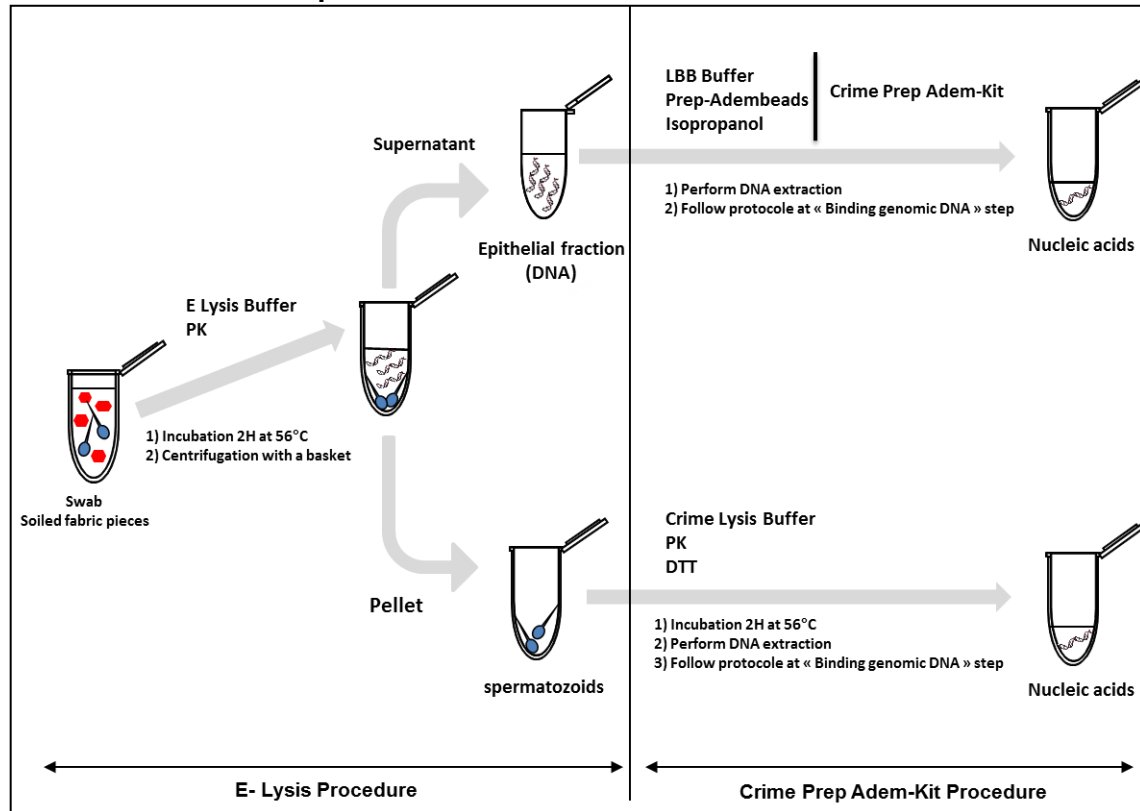
- PBS 1X or physiological water

Materials:

- 56°C heat block, thermomixer or water bath
- Microtubes
- Baskets for microtubes
- Centrifuge for microtubes

Differential Cell Lysis Protocol

Differential extraction protocol:



1. Epithelial cells lysis

1. Place the sample in a microtube (break the rod of the swab in order to be able to close the microtube).
2. Add **450µL of ELysis Buffer** to the microtube containing the sample.
3. Add **9µL of Proteinase K** to the microtube containing the sample.
4. Close the tube, homogenize and place it in a thermomixer, then incubate at +56°C and 1000rpm for 2 hours.

E Lysis Buffer

NOTE! It is recommended to prepare a fresh premixed lysis solution by combining 450µL of E-Lysis Buffer and 9µL of Proteinase K per test.

ELysis Buffer	450µL	] X number of extractions
Proteinase K	9µL	

In this case, add 459µL of premixed lysis solution to the microtube containing the sample.

IMPORTANT! You can use a heat block or a water bath instead of a thermomixer. For effective recovery, make sure that the sample is immersed by the lysis solution during incubation.

5. After epithelial cell lysis, remove the sample, place it in a basket and dispose the basket (containing the sample) in the microtube (containing the lysat).
6. Centrifuge 5 minutes at 12.000rpm.
7. Discard the basket with the sample.
8. Transfer carefully **the supernatant** containing free epithelial cell DNA in a new microtube (it is absolutely necessary not to disturb the pellet containing the spermatozooids). Keep the microtube for the following spermatozoid lysis.
9. Perform epithelial DNA extraction with **400µl of supernatant (epithelial fraction)**. Refer to Crime Prep Adem-Kit Instruction (start the protocol at the “Binding genomic DNA” step).

2. Spermatozoid cells recovery

1. Resuspend the spermatozoid pellet with 1ml of PBS 1X or physiological water, vortex briefly and centrifuge 5 minutes at 12.000rpm.

E Lysis Buffer

2. Discard carefully the supernatant without disturb the pellet.
3. Wash spermatozoid pellet one more time with 1ml of PBS 1X or physiological water, vortex briefly and centrifuge 5 minutes at 12.000rpm.
4. Discard carefully the supernatant without disturb the pellet.
5. Perform spermatozoid lysis and DNA extraction with the Crime Prep Adem-Kit. **Refer to Crime Prep Adem-Kit Instruction.**

Warranty

This product is only for use in research. The purchaser is responsible to validate the performance of this product for any particular use, and to use the product in compliance with any applicable regulations. The products are warranted to the original purchaser only to conform to the quality and contents stated on the vial and outer labels for duration of the stated shelf life. Ademtech's obligation and the purchaser's exclusive remedy under this warranty is limited either to replacement, at Ademtech's expense, of any products which shall be defective in manufacture, and which shall be returned to Ademtech, transportation prepaid, or at Ademtech's option, refund of the purchase price. Claims for merchandise damaged in transit must be submitted to the carrier.

Symbols

REF Reference Number

LOT Symbol for batch code/lot number.

The symbol is accompanied by the manufacturer's batch code

 **Manufacturer**

This symbol is accompanied by the name and address of the manufacturer.

E Lysis Buffer



Expiration Date

This symbol is accompanied by a date to indicate that the device should not be used after the end of the year, month or day shown.



Sufficient For

The number of items for which the contents of the pack is sufficient appears adjacent to the symbol.



Temperature Limitation / Temperature Range

Symbol for temperature limitation or temperature range. Both upper and lower limits are indicated adjacent to horizontal lines.

Ordering Information

- **Ademtech Kits**

CAT NO.	PRODUCT	PACKAGE SIZE
06213	Crime Prep Adem-Kit	1 x 96
06212	Crime Prep Adem-Kit AutoMag Solution (prefilled reagents plate)	48 (4X12)
06140	Smart D-N-Adem-Kit for Profiling	1 x 100
10801	Bone Lysis Buffer	48

- **Instrument and consumables**

CAT NO.	PRODUCT	PACKAGE SIZE
21101	AutoMag Instrument	Each
21102	Microtiter Deepwell 96 plate	50 pcs
21103	12-tip comb for 96 Deepwell plate	50 pcs
21104	Elution strip	40 pcs