

Instrukcja

Gel-Out

Zestaw do izolacji DNA z żelu agarozowego.

numer katalogowy	wielkość
023-50	50 izolacji
023-250	250 izolacji

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Spis treści

Skład	3
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	3
Niezbędne	3
Opcjonalne	3
Dodatkowe informacje	3
Protokół izolacji	4
Informacje Bezpieczeństwa	6

Skład

składnik	50 izolacji	250 izolacji	przechowywanie
Minikolumny	50 szt.	250 szt.	temp. pok.
R7SI roztwór do rozpuszczania agarozy	30 ml	140 ml	temp. pok.
A1 roztwór płuczący	50 ml	250 ml	temp. pok.
Octan sodu (3M, pH 5,5)	500 µl	3 ml	temp. pok.
Izopropanol	15 ml	70 ml	temp. pok.
TE bufor	5 ml	16 ml	temp. pok.

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 1,5 ml typu Eppendorf
- Inkubator lub termoblok 50 °C (zalecany Thermomixer firmy Eppendorf)
- Worteks
- Mikrowirówka

Opcjonalne

- Woda jałowa (nr kat. 003-075, 003-25)

Dodatkowe informacje

- Pojemność kolumny: do 20 µg DNA / Minimalna pojemność kolumny: 2 µg DNA
Przy zawartości DNA poniżej 2 µg zdecydowanie zalecane jest użycie zestawu Gel-Out Concentrator (nr kat. 023-50C, 023-250C)
- Zakres wielkości fragmentów DNA: 100 pz-10 000 pz
- Typowy odzysk DNA: 60-80%
- Objętość elucyjna: 30-50 µl

Protokół izolacji

1. Wycięte bloczki agarozowe (do 200 mg) wraz z zawartym w nich DNA przenieść do probówek typu Eppendorf (nie ma w zestawie).

Elektroforezę można przeprowadzić w buforach TAE lub TBE.

- 2.. Dodać odpowiednią objętość roztworu **R7SI** do rozpuszczania agarozy:

<2% żel agarozowy - **400 µl**

≥2% żel agarozowy - **500 µl**

Całość inkubować w temp. **50 °C** do całkowitego rozpuszczenia agarozy. Podczas inkubacji próbki mieszać od czasu do czasu przez odwracanie probówek.

Roztwór R7SI do rozpuszczania agarozy zawiera barwny wskaźnik kontroli pH. Po inkubacji mieszanina próbki DNA z roztworem R7SI do rozpuszczania agarozy powinna być żółta - oznacza to optymalną wydajność wiązania DNA.

Barwa różowa wskazuje na zbyt wysokie pH roztworu. W takich warunkach oczyszczane DNA nieefektywnie wiąże się do złoża i może być utracone.

Zbyt wysokie pH może zostać skorygowane poprzez dodanie 1-10 µl 3M roztworu octanu sodu (pH 5,5) (w zestawie). Oczyszczanie można kontynuować po osiągnięciu żółtej barwy.



optymalne warunki pH ≤7,2



zbyt wysokie pH

3. Dodać odpowiednią objętość **izopropanolu**:

<2% żel agarozowy - **200 µl**

≥2% żel agarozowy - **250 µl**

Wymieszać przez odwracanie probówek.

4. Próbkę krótko zwirować w celu usunięcia resztek roztworu z wieczek i ścianek probówek.

5. Próbkę nanieść na minikolumny.

6. Wirować **30 s** przy **10 000-15 000 RPM**.

7. Wyjąć minikolumny z probówek, wylać przesącz. Włożyć minikolumny do **tych samych** probówek.

8. Dodać po **600 µl** roztworu płuczącego **A1**.

9. Wirować 30 s przy 10 000-15 000 RPM.
10. Wyjąć minikolumny z probówek, wylać przesącz. Włożyć minikolumny do **tych samych** probówek.
11. Dodać po 300 µl roztworu płuczącego A1.
12. Wirować 1 min przy 10 000-15 000 RPM.
13. Wyjąć minikolumny z probówek, wylać przesącz. Włożyć minikolumny do **tych samych** probówek.
14. Wirować 1 min przy 10 000-15 000 RPM.
15. Przenieść minikolumny do **nowych** probówek 1,5 ml (nie ma w zestawie).
16. Na złoże na dnie minikolumn nanieść po 50 µl buforu TE lub wody jałowej (nie ma w zestawie).

W momencie dodawania płynu elucyjnego (buforu TE lub wody) należy zwrócić uwagę, aby płyn całkowicie pokrył złoże. Powinno się go dodawać na środek minikolumny. Jeżeli część płynu elucyjnego pozostanie na ściankach minikolumny, to elucja będzie mniej wydajna. Elucja mniejszą objętością jest mniej wydajna, ale uzyskane DNA ma wyższe stężenie. Elucja w 50 µl jest bardziej wydajna, ale uzyskany preparat ma niższe stężenie.
17. Inkubować próbki przez 3 min w temp. pokojowej.
18. Wirować 1 min przy 10 000-15 000 RPM.
17. Usunąć minikolumny, a oczyszczone DNA znajdujące się w probówkach przechowywać w temp. 4-8°C do czasu dalszych analiz.

Informacje Bezpieczeństwa

**UWAGA****R7SI roztwór do rozpuszczania agarozы**

H302 Działa szkodliwie po połknięciu.

H315 Działa drażniąco na skórę.

H319 Działa drażniąco na oczy.

P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

**NIEBEZPIECZEŃSTWO****A1 roztwór płuczący**

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H319 Działa drażniąco na oczy.

H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.

P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.

P261 Unikać wdychania par.

P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

**NIEBEZPIECZEŃSTWO****Izopropanol**

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H319 Działa drażniąco na oczy.

H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.

P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.

P261 Unikać wdychania par.

P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

