

Instrukcja

Clean-Up 96-well

Zestaw do oczyszczania DNA po reakcji PCR i innych reakcjach enzymatycznych (m.in. trawieniu enzymami restrykcyjnymi, kinazowaniu, ligacji, itp.). Format płytek 96-dołkowych.

numer katalogowy	wielkość
021-192	192 izolacje

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	192 izolacje	przechowywanie
P96 płytka oczyszczająca	2 szt.	temp. pok.
E96 płytka elucyjna (1,1 ml)	2 szt.	temp. pok.
R96 płytka odbierająca (1,1 ml)	2 szt.	temp. pok.
Folia zabezpieczająca	2 szt.	temp. pok.
Rezerwuár	3 szt.	temp. pok.
A1 roztwór płuczący	190 ml	temp. pok.
G1 roztwór wiążący	105 ml	temp. pok.
Octan sodu (3M, pH 5,5)	3 ml	temp. pok.
TE bufor	12 ml	temp. pok.

Pojemność kolumny: do 20 µg DNA

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 1,5 ml typu Eppendorf
- Wirówka z rotorem uchylnym na płytce formatu 96 studzienek

Opcjonalne

- Vortex
- Przezroczysta folia zabezpieczająca do zamykania płytek
- 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 Clean-Up Concentrator (nr kat. 021-50C, 021-250C)
- Zakres wielkości fragmentów DNA: 100 pz-10 000 pz
- Typowy odzysk DNA: 60-90%
- Objętość elucyjna: 30-50 µl

Protokół izolacji

1. Do próbek (maks. 100 µl) zawierających DNA dodać po **5 objętości** roztworu wiążącego **G1**. Wymieszać dokładnie przez odwracanie probówek, worteksowanie lub pipetowanie.

Roztwór wiążący G1 zawiera barwny wskaźnik kontroli pH. Po wymieszaniu próbki DNA z roztworem wiążącym G1, mieszanina 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

2. Umieścić płytkę oczyszczającą **P96** na płytce odbierającej **R96**. Płytki należy złożyć delikatnie, bez dociskania.
3. Nanieść próbki do odpowiednich studzienek na płytce oczyszczającej **P96**. Nakleić **folię zabezpieczającą** na płytkę oczyszczającą **P96**.

4. Umieścić złożone płytki w rotorze uchylnym.

W przypadku nieparzystej liczby płytek należy bezwzględnie umieścić w rotorze odpowiednią przeciwwagę do wirowanej płytki (w tym przypadku "kanapki").

Wirować przez **1 min** przy **2 000 x g**.

5. Ostrożnie rozdzielić płytki. Wylać przesącz ze studzienek na płytce odbierającej **R96**. Ponownie umieścić płytkę oczyszczającą **P96** na płytce odbierającej **R96**. Usunąć **folię zabezpieczającą** z płytki oczyszczającej **P96**.

6. Nanieść po **600 µl** roztworu płuczącego **A1** do studzienek na płytce oczyszczającej **P96**. Nakleić **folię zabezpieczającą** na płytkę oczyszczającą **P96** (nie ma w zestawie).

7. Umieścić złożone płytki w rotorze uchylnym.

W przypadku nieparzystej liczby płytek należy bezwzględnie umieścić w rotorze odpowiednią przeciwwagę do wirowanej płytki (w tym przypadku "kanapki").

Wirować przez **2 min** przy **2 000 x g**.

8. Ostrożnie rozdzielić płytki. Wylać przesącz ze studzienek na płytce odbierającej **R96**. Ponownie umieścić płytkę oczyszczającą **P96** na płytce odbierającej **R96**. Usunąć **folię zabezpieczającą** z płytki oczyszczającej **P96**.

9. Nanieść po **300 µl** roztworu płuczącego **A1** do studzienek na płytce oczyszczającej **P96**.
Nakleić **folię zabezpieczającą** na płytkę oczyszczającą **P96** (nie ma w zestawie).
10. Umieścić złożone płytki w rotorze uchylnym.

W przypadku nieparzystej liczby płytek należy bezwzględnie umieścić w rotorze odpowiednią przeciwwagę do wirowanej płytki (w tym przypadku "kanapki").

Wirować przez **10 min** przy **2 000 x g**.
11. Ostrożnie rozdzielić płytki. Usunąć płytkę odbierającą **R96**. Umieścić płytkę oczyszczającą **P96** na płytce elucyjnej **E96**.
Usunąć **folię zabezpieczającą** z płytki oczyszczającej **P96**.
12. Nanieść po **50 µl** buforu **TE** lub wody jałowej (nie ma w zestawie) do studzienek na płytce oczyszczającej **P96**.

W momencie dodawania płynu elucyjnego (buforu **TE** lub wody) należy zwrócić uwagę, aby płyn całkowicie pokrył złożę. 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.

Nakleić **folię zabezpieczającą** na płytkę oczyszczającą **P96** (nie ma w zestawie).

Zostawić na **3 min** w **temp. pokojowej**.
13. Umieścić złożone płytki w rotorze uchylnym.

W przypadku nieparzystej liczby płytek należy bezwzględnie umieścić w rotorze odpowiednią przeciwwagę do wirowanej płytki (w tym przypadku "kanapki").

Wirować przez **3 min** przy **2 000 x g**.
14. Ostrożnie rozdzielić płytki. Usunąć płytkę oczyszczającą **P96**.
Nakleić **folię zabezpieczającą** na płytkę elucyjną **E96**.
Zabezpieczone próbki przechowywać w **temp. 4 °C** do czasu dalszych analiz.

Informacje Bezpieczeństwa



UWAGA

G1 roztwór wiążący

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.



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

