

Instrukcja

Genomic Mini AX Tissue Spin

Zestaw o zwiększonej wydajności do izolacji genomowego DNA z tkanek i hodowli komórkowych.

numer katalogowy	wielkość
056-100S	100 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 wchodzi w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Spis treści

Skład	3
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	3
Niezbędne	3
Opcjonalne	3
Ważne informacje	4
Przygotowanie materiału	4
Tkanki stałe	4
Hodowle komórkowe	4
Nasienie	4
Protokół izolacji	4
Zobojętnianie próbek DNA	6
Test funkcjonalności buforu E	6
Informacje Bezpieczeństwa	7

Skład

składnik	100 izolacji	przechowywanie
Kolumny Mini AX Spin	100 szt.	2–8 °C
Probówki 2 ml	200 szt.	15–25 °C
LSU bufor lizujący	50 ml	15–25 °C
W1 pierwszy roztwór płuczący	70 ml	15–25 °C
W2 drugi roztwór płuczący	60 ml	15–25 °C
E bufor elucyjny (nie zawiera EDTA)	20 ml	2–8 °C
N bufor zobojętniający	1 ml	15–25 °C
T roztwór	400 µl	2–8 °C
Proteinaza K	2 x 1,1 ml	4–8 °C

Pojemność kolumny do oczyszczania DNA wynosi 15 µg.

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 1,5 ml typu Eppendorf
- 1M DTT (nr kat. 2010-5, 2010-25, 2010-10P) (do izolacji z nasienia)
- Inkubator lub termoblok 50 °C (zalecany Thermomixer firmy Eppendorf)
- Worteks
- Mikrowirówka

Opcjonalne

- RNAza (nr kat. 1006-10, 1006-50)

Ważne informacje

- Po użyciu buforu elucyjnego E należy zawsze szczelnie zakręcać pojemnik. Składniki buforu elucyjnego E ulegają rozkładowi przy długotrwałym kontakcie z powietrzem. Bufor elucyjny E należy zawsze przechowywać w temp. 2-8 °C.

Przygotowanie materiału

Tkanki stałe

1. Maksymalnie **20 mg** rozdrobnionej tkanki (pociętej na fragmenty lub roztartej w ciekłym azocie) umieścić w probówce 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
2. Przejść do punktu 1. protokołu izolacji.

Hodowle komórkowe

1. Przenieść **1 x 10⁶** hodowli komórkowych do probówki 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie). Odwirować i usunąć supernatant.
2. Przejść do punktu 1. protokołu izolacji.

Nasienie

1. Przenieść **100 µl** nasienia do probówki 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
2. Dodać po **20 µl 1M DTT** (nie ma w zestawie).
3. Przejść do punktu 1. protokołu izolacji.

Protokół izolacji

1. Dodać po **400 µl** buforu lizującego **LSU** oraz **20 µl** **proteiny K**.

2. Próbkę zworteksować i inkubować w temp. **50 °C**:
 hodowle komórkowe i nasienie - **10 min**
 tkanki stałe - **1-2 godz.** (do całkowitego strawienia).

Podczas inkubacji próbki należy kilkakrotnie worteksować.

Inkubację można przeprowadzić w urządzeniu Thermomixer firmy Eppendorf lub jego odpowiedniku przy parametrach ciągłego mieszania przy 1400 RPM.

Opcjonalne usuwanie RNA: do próbki należy dodać po 5 µl RNAzy (10 mg/ml) (nie ma w zestawie). Całość wymieszać i pozostawić próbkę na 5 min w temp. pokojowej.

3. Próbkę intensywnie wortexować przez **2 min** przy **1000-1400 RPM**.

Ten krok jest kluczowy dla wydajności izolacji DNA.

4. Wirować przez **5 min** przy **8000 x g**.

Na dnie próbówki powinien znajdować się zwarty osad stanowiący mieszaninę niezlizowanego materiału.

5. Supernatant nanieść na kolumnę Mini AX Spin znajdującą się w 2 ml próbówce.

6. Wirować przez **30-60 s** przy **8000 x g**.

7. Wyjąć kolumnę Mini AX Spin z próbówki i umieścić ją w **nowej** próbówce **2 ml** (w zestawie).

8. Nanieść po **600 µl** pierwszego roztworu płuczącego **W1**.

Wirować przez **30-60 s** przy **8 000 x g**.

9. Wyjąć kolumnę Mini AX Spin z próbówki i umieścić ją w **nowej** próbówce **2 ml** (w zestawie).

10. Nanieść po **500 µl** drugiego roztworu płuczącego **W2**.

Wirować przez **30-60 s** przy **14 000-21 000 x g**.

11. Przygotować próbówki elucyjne (nie ma w zestawie). Mogą to być jałowe próbówki 1,5 ml typu Eppendorf.

Dodać na dno próbówki elucyjnej po **5 µl** buforu zobojętniającego **N**.

Zobojętnianie próbek DNA - str. 6.

12. Przenieść kolumnę Mini AX Spin do przygotowanej próbówki elucyjnej.

13. Przed użyciem buforu elucyjnego E zalecamy przeprowadzenie testu funkcjonalności - str. 6.

Nanieść po **100-150 µl** buforu elucyjnego **E** na kolumnę Mini AX Spin.

Zostawić na **2 min** w **temp. pokojowej**.

Po użyciu buforu elucyjnego E należy zawsze szczelnie zakręcać pojemnik. Składniki buforu elucyjnego E ulegają rozkładowi przy długotrwałym kontakcie z powietrzem. Bufor elucyjny E należy zawsze przechowywać w temp. od 2-8 °C.

14. Wirować przez **30-60 s** przy **14 000-21 000 x g**.

15. Usunąć kolumnę Mini AX Spin i zamknąć próbówkę elucyjną zawierającą DNA.

Zobojętnianie próbek DNA

Bufor elucyjny E jest silnie alkaliczny i po zamrożeniu może powodować degradację DNA. Z tego powodu konieczne jest stosowanie buforu zobojętniającego N. Z naszej praktyki laboratoryjnej wynika, że najwygodniej jest dodać bufor zobojętniający N przed elucją DNA, do pustej probówki elucyjnej.

W trakcie elucji, zawieszone w buforze elucyjnym DNA wymiesza się z buforem zobojętniającym N i ulegnie natychmiastowej neutralizacji. Będzie zawieszone w roztworze 10 mM Tris pH 8,5.

Jeżeli bufor zobojętniający N nie został dodany przed elucją DNA, to można dodać go po zakończonej izolacji - przed zamrożeniem próbek DNA.

Test funkcjonalności buforu E

Bufor elucyjny E ma kluczowy wpływ na wydajność elucji DNA. Jego prawidłowe działanie można sprawdzić za pomocą roztworu T wchodzącego w skład zestawu.

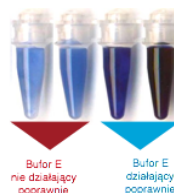
Kiedy przeprowadzić test funkcjonalności:

- Bufor E nie był używany przez min. 2 miesiące.
- Bufor E był przechowywany w temp. pokojowej przez min. 2 tygodnie.
- Fiolka zawierająca bufor E nie została szczelnie zamknięta po użyciu.

Test funkcjonalności:

Przenieść 20 µl buforu E do probówki PCR; dodać po 2 µl roztworu T; całość wymieszać, poczekać 2 min.

Porównać kolor mieszaniny ze zdjęciem przedstawiającym kolory referencyjne.



Informacje Bezpieczeństwa



NIEBEZPIECZEŃSTWO

Proteinaza K

H315 Działa drażniąco na skórę.

H319 Działa drażniąco na oczy.

H334 Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.

H335 Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.

P261 Unikać wdychania pyłu.

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.

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.

P342+P311 W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.



UWAGA

LSU bufor lizujący

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.

Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

W1 pierwszy roztwór płuczacy

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.

Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

E bufor elucyjny

H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.

P280 Stosować rękawice ochronne/ odzież ochronną/ ochronę oczu/ ochronę twarzy.

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.

Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P310 Natychmiast skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.



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

wersja 2023-1

