

Instrukcja

Genomic Mini AX Phage

Zestaw o zwiększonej wydajności do izolacji genomowego DNA z bakteriofagów.
Procedura z precypitacją DNA.

numer katalogowy	wielkość
011-20	20 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
Protokół	4
Informacje bezpieczeństwa	6

Skład

składnik	20 izolacji	przechowywanie
Kolumny do oczyszczania fagów	20 szt.	2–8 °C
Probówki 2 ml	20 szt.	15–25 °C
Probówki 20 ml	20 szt.	15–25 °C
PF roztwór do precypitacji	100 ml	15–25 °C
SM roztwór do zawieszania	14 ml	15–25 °C
LSU bufor lizujący	27 ml	15–25 °C
K1 roztwór równoważący	22 ml	15–25 °C
K2 roztwór płuczący	88 ml	15–25 °C
K3 roztwór elucyjny	28 ml	15–25 °C
PM mieszanina precypitacyjna	18 ml	15–25 °C
TE bufor	5 ml	15–25 °C
NM mieszanina nukleaz	330 µl	-20 °C
Proteinaza K	600 µl	4–8 °C

Pojemność minikolumny do oczyszczania DNA wynosi 20 µg.

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 1,5 ml, 2 ml typu Eppendorf
- 70% etanol
- Inkubator lub termoblok 37 °C, 50 °C (zalecany Thermomixer firmy Eppendorf)
- Mikrowirówka

Protokół

1. Do lizatów zawierających fagi dodać po **1/5 objętości** roztworu **PF** do precypitacji, np. do 1 ml próbki dodać po 200 µl roztworu PF.

Całość wymieszać i pozostawić w lodzie na **1 godz.**
2. Wirować przez **20 min** przy **10 000 x g**.

Zalecamy oznaczyć markerem miejsce na zewnętrznej ściance probówki, gdzie spodziewane jest osadzenie precypitatu w wyniku wirowania.
3. Usunąć supernatant.
Osad (niewidoczny) zawiesić w **600 µl** roztworu **SM** do zawieszania poprzez dokładne optłokanie ścianek probówki.
4. Dodać po **15 µl** mieszaniny nukleaz **NM**.

Całość wymieszać i inkubować przez **10 min** w temp. **37 °C**.
5. Dodać po **20 µl** **proteiny K** i **1,2 ml** buforu lizującego **LSU**.

Całość wymieszać i inkubować przez **15 min** w temp. **50 °C**.
6. Podczas inkubacji przygotować kolumny do oczyszczania fagów przez umieszczenie ich w 20 ml probówkach odbieralnikowych i ustawienie w pozycji pionowej w statywie.

Nanieść na kolumnę po **1 ml** roztworu równoważącego **K1**.
Poczekać, aż roztwór wypłynie z kolumny.
7. Nanieść próbkę na zrównoważoną kolumnę.
Poczekać, aż lizat wypłynie z kolumny.
8. Nanieść na kolumnę po **2 ml** roztworu płuczącego **K2**.
Poczekać, aż roztwór wypłynie z kolumny.

Należy obserwować, czy roztwór w całości przeszedł przez kolumnę. Gdy roztwór przestanie kapać z kolumny należy przejść do kolejnego punktu.
9. Ponownie nanieść na kolumnę po **2 ml** roztworu płuczącego **K2**.
Poczekać, aż roztwór wypłynie z kolumny.

Należy obserwować, czy roztwór w całości przeszedł przez kolumnę. Gdy roztwór przestanie kapać z kolumny należy przejść do kolejnego punktu.

10. Nanieść na kolumnę po **100 μ l** roztworu elucyjnego **K3**.
Poczekać, aż eluat wypłynie z kolumny.

Uwaga: Ten krok ma na celu zmniejszenie całkowitej objętości eluatu, gdyż martwa objętość kolumny wynosi 100 μ l.

11. Przenieść kolumnę do probówki precypitacyjnej **2 ml** (w zestawie).

Uwaga: Kolumna posiada odpowiednie żeberka pozwalające na łatwe umieszczenie jej w probówce.

12. Nanieść na kolumnę po **1 ml** roztworu elucyjnego **K3**.
Poczekać, aż eluat wypłynie z kolumny. Usunąć kolumnę.

13. **Uwaga:** Mieszanina precypitacyjna PM zawiera dodatkowo wzmacniacz precypitacji, dlatego przed użyciem należy ją wymieszać przez kilkakrotne odwracanie butelki.

Do eluatów dodać po **800 μ l** mieszaniny precypitacyjnej **PM**.

14. Wymieszać i wirować przez **5 min** przy **10 000 x g**.

Na dnie powinien być widoczny jasnoniebieski osad DNA.

15. Ostrożnie zlać supernatant, tak aby nie usunąć niebieskiego osadu DNA.

Uwaga: W trakcie zlewania supernatantu łatwo wylać osad DNA. Dla bezpieczeństwa zaleca się wylewać supernatant do przygotowanej probówki, tak aby można było go odzyskać.

16. Dodać po **500 μ l 70% etanolu** (nie ma w zestawie).
Całość wymieszać i wirować przez **3 min** przy **12 000 x g**.

Na dnie powinien być widoczny jasnoniebieski osad DNA.

17. Ostrożnie zlać supernatant, tak aby nie usunąć niebieskiego osadu DNA.

Uwaga: W trakcie zlewania supernatantu łatwo wylać osad DNA. Dla bezpieczeństwa zaleca się wylewać supernatant do przygotowanej probówki, tak aby można było go odzyskać..

18. Odwrócić probówkę z osadem DNA i suszyć odwróconą do góry dnem przez **5 min** w **temp. pokojowej**.

Uwaga: Jeżeli na ściankach probówki wciąż znajdują się resztki alkoholu, należy je osuszyć przy pomocy patyczków higienicznych.

19. Zawiesić osad fagowego DNA w odpowiedniej ilości buforu **TE**.

Niebieska barwa osadu umożliwia śledzenie procesu rozpuszczania DNA.

20. Oczyszczone DNA przechowywać w temp. **-20 °C** do czasu dalszych analiz.

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.
 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.



UWAGA

K1 roztwór równoważący

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

K2 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

K3 roztwór elucyjny

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

PM mieszanina precypitacyjna

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

wersja 2023-1

