

Instrukcja

Genomic Mini Universal

Zestaw o zwiększonej wydajności do izolacji genomowego DNA z różnych materiałów.

numer katalogowy	wielkość
116U-50	50 izolacji
116U-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

Zalety	3
Materiał wyjściowy	3
Specyfikacja	3
Skład	4
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	4
Niezbędne	4
Opcjonalne	4
Przygotowanie kolumny	5
Przygotowanie materiału	5
Bakterie G-, G+ (hodowle)	5
Drożdże (hodowle)	6
Hodowle komórkowe	7
Krew świeża lub mrożona	7
Nasienie	8
Kał, odchody, próby środowiskowe (gleba, osady czynne, kompost)	9
Kał, odchody, próby środowiskowe (gleba, osady czynne, kompost) przechowywane w roztworze zabezpieczającym	10
Tkanki stałe	12
Wymazy suche	12
Protokół izolacji	13
Informacje dodatkowe	14
Informacje bezpieczeństwa	15

Zalety

- Jeden uniwersalny zestaw do izolacji DNA z różnych typów materiału.
- Dokładne wytyczne przygotowania materiału.
- Szybka procedura izolacji.
- Wysoka jakość otrzymanego DNA.

Materiał wyjściowy

rodzaj materiału	wielkość próbki
Bakterie G-, G+ (hodowle)	do 1 ml
Drożdże (hodowle)	do 1 ml
Hodowle komórkowe	do 1×10^6
Krew świeża lub mrożona	do 200 µl
Nasienie	200 µl
Kał, odchody, próby środowiskowe (gleba, osady czynne, kompost)	20 - 50 mg
Kał, odchody, próby środowiskowe (gleba, osady czynne, kompost) przechowywane w roztworze zabezpieczającym	200 - 300 µl
Tkanki stałe	do 20 mg
Wymazy suche	1 szt.

Specyfikacja

czas trwania procedury izolacji	~ 15 min
objętość elucji	100 µl
roztwór elucyjny	bufor Tris
pojemność wiązania	20 µg DNA
zastosowanie wyizolowanego materiału	PCR, Real-time PCR, sekwencjonowanie

Skład

składnik	116U-50		116U-250		przechowywanie
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	
minikolumny	50 szt.	K-K01-50	250 szt.	K-K01-250	15-25 °C
probówki 2 ml	100 szt.	K-PGR-100	500 szt.	K-PGR-500	15-25 °C
RA roztwór aktywujący	22 ml	K-RA-22	110 ml	K-RA-110	15-25 °C
BL bufor lizujący	15 ml	K-BL-15	70 ml	K-BL-70	15-25 °C
bufor LSDE	12 ml	K-LSDE-12	55 ml	K-LSDE-55	15-25 °C
RW roztwór wiążący	10 ml	K-RW-10	42 ml	K-RW-42	15-25 °C
W10 roztwór płuczący	28 ml	K-W10-28	140 ml	K-W10-140	15-25 °C
W11 roztwór płuczący	50 ml	K-W11-50	250 ml	K-W11-250	15-25 °C
bufor Tris (10 mM, pH 8,5)	30 ml	K-TRIS-30	125 ml	K-TRIS-125	15-25 °C
Proteinaza K	1,1 ml	K-PRK-11A	5 x 1,1 ml	K-PRK-11A	2-8 °C*

* możliwość przechowywania w temp. 15-25 °C do 12 miesięcy

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- probówki zamykane 1,5 ml (do lizy próbek)
- termoblok
- worteks
- mikrowirówka

Opcjonalne

- RNaza (10 µl na próbkę), [nr.kat. 1006-10](#)

Przygotowanie kolumny

Przed przystąpieniem do izolacji należy aktywować kolumny.

1. Na kolumnę nanieść **400 µl** roztworu aktywującego **RA**.
2. Inkubować **5 min** w temp. pokojowej.
3. Wirować **1 min** przy **10 000-15 000 RPM**.
4. Usunąć przesącz.
5. Włożyć kolumnę do probówki.

Przygotowanie materiału

Bakterie G-, G+ (hodowle)

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

Bacteria lysis kit (nr kat. 604BK-50, 604BK-100)

- **BacBreaker** mieszanina enzymów lizujących do bakterii (20 µl na próbkę)
- bufor **BS** (200 µl buforu na próbkę)

1. Przenieść do **1 ml** hodowli bakteryjnej do probówki zamykanej 1,5 ml (nie ma w zestawie). Wirować przez **3 min** przy **10 000 RPM**. Usunąć supernatant.
2. Osad bakteryjny zawiesić w **200 µl** buforu **BS**.
3. Dodać **20 µl** mieszaniny enzymów **BacBreaker**.
Opcjonalne usuwanie RNA. Do próbek należy dodać po **10 µl RNazy** (nr kat. 1006-10).
4. Całość wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **10 min** w temp. **50 °C**.
5. Dodać **200 µl** buforu lizującego **BL** i **20 µl** **Proteinyzy K**.
6. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **10 min** w temp. **50 °C**.

7. Dodać **150 µl** roztworu wiążącego **RW**.
8. Wymieszać przez worteksowanie **10 s**.
9. Przejść do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

Drożdże (hodowle)

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

Yeast lysis kit (nr kat. 604YK-50, 604YK-100)

- **Litykaza** (20 µl na próbkę)
- **DTT RTU, woda ultraczysta** (10 µl 1M roztworu na próbkę)
- **bufor BS** (200 µl buforu na próbkę)

Przed rozpoczęciem procesu należy przygotować roztwór **1M DTT**. W tym celu do fiołki z DTT należy dodać 1 ml wody ultraczystej i proszek całkowicie rozpuścić. Roztwór należy przechowywać w temp. -20 °C.

1. Przenieść do **1 ml** próbki do zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie). Wirować przez **3 min** przy **10 000 RPM**. Usunąć supernatant.
2. Osad zawiesić w **200 µl** buforu **BS**.
3. Dodać **20 µl litykazy** oraz **10 µl 1M DTT**.
Opcjonalne usuwanie RNA. Do próbek należy dodać po **10 µl RNazy** (nr kat. 1006-10).
4. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **20 min** w temp. **37 °C**.
5. Dodać **200 µl** buforu lizującego **BL** oraz **20 µl Proteinyzy K**.
6. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **10 min** w temp. **50 °C**.
7. Dodać **150 µl** roztworu wiążącego **RW**.
8. Wymieszać przez worteksowanie **10 s**.
9. Przejść do punktu 1. [Protokołu izolacji](#).

Hodowle komórkowe

1. Przenieść próbkę hodowli komórkowej zawierającą do **1 x 10⁶** komórek do probówki zamykanej 1,5 ml (nie ma w zestawie).
Wirować **2 min** przy **15 000 RPM**. Usunąć supernatant.
2. Osad zawiesić w **200 µl** buforu **Tris**.

Opcjonalne usuwanie RNA. Do próbek należy dodać po **10 µl RNazy** (nr kat. 1006-10).
3. Dodać **200 µl** buforu lizującego **BL** oraz **20 µl Proteiny K**.
4. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **10 min** w temp. **50 °C** z funkcją wytrząsania.
5. Dodać **150 µl** roztworu wiążącego **RW**.
6. Wymieszać przez worteksowanie **10 s**.
7. Prześć do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

Krew świeża lub mrożona

1. Przenieść **200 µl** krwi do probówki zamykanej 1,5 ml (nie ma w zestawie).

Informacja. W przypadku mniejszej ilości krwi niż 200 µl należy dodać buforu Tris do całkowitej objętości 200 µl.
2. Dodać po **200 µl** buforu lizującego **BL** oraz **20 µl Proteiny K**.
3. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **10 min** w temp. **50 °C**.
4. Dodać **150 µl** roztworu wiążącego **RW**.
5. Wymieszać przez worteksowanie **10 s**, następnie zwirować przez **20 s** przy **10 000 RPM** celem usunięcia resztek materiału z wieczek probówek.
6. Prześć do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

Nasienie

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

- **DTT RTU** (20 µl 1M roztworu na próbkę), [nr kat. 2010-10P](#)

Przed rozpoczęciem procesu należy przygotować roztwór 1M DTT. W tym celu do fiolki z DTT należy dodać 1 ml jałowej wody (nie ma w zestawie) i proszek całkowicie rozpuścić. Roztwór należy przechowywać w temp. -20 °C.

1. Przenieść **200 µl** nasienia do probówki zamykanej 1,5 ml (nie ma w zestawie).

Informacja. W przypadku mniejszej ilości nasienia niż 200 µl należy dodać buforu Tris do całkowitej objętości 200 µl.

2. Dodać **20 µl Proteinazy K** oraz **20 µl 1M DTT**.

Opcjonalne usuwanie RNA. Do próbek należy dodać po **10 µl RNazy** (nr kat. 1006-10).

3. Dodać po **200 µl** buforu lizującego **BL**.

4. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **10 min** w temp. **50 °C**.

5. Dodać **150 µl** roztworu wiążącego **RW**.

6. Wymieszać przez worteksowanie **10 s**.

7. Przejść do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

Kał, odchody, próby środowiskowe (gleba, osady czynne, kompost)

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

Microbiome lysis kit (nr kat. 604MK-50, 604MK-100)

- próbówki z kuleczkami cyrkoniovymi (2 ml próbówka z mieszaną kuleczek na próbkę),
- roztwór precypitujący L3P (75 µl na próbkę)
- bufor LSDE (600 µl buforu na próbkę)
- antypieniacz (10 µl na próbkę)

Przed rozpoczęciem procesu, należy zmieszać bufor **LSDE** z **antypieniaczem**. Przygotować mieszaninę **LSDE-antypieniacz** przez zmieszanie **600 µl** buforu **LSDE** z **10 µl antypieniacza**/ilość na 1 próbkę. Należy przygotować objętość wystarczającą dla izolowanych próbek z 10% nadmiarem. Przed użyciem wymieszać.

1. Przenieść **20-50 mg** próbki do 2 ml zakręcanej próbówki zawierającej mieszaną kuleczek. Dodać **600 µl** buforu **LSDE-antypieniacz**.
2. **Opcja A:** Liza mechaniczna z wykorzystaniem homogenizatora. Umieścić próbówki z próbkami w urządzeniu Beadbeater. Ustawić następujący program: **3 x cykl po 20 s z maksymalną siłą, przerwa na chłodzenie 2 min**.

Opcja B: Umieścić próbówki z próbkami w inkubatorze z funkcją mieszania. Mieszać **30 min w temp. pokojowej przy 2000 RPM**.
3. Wirować próbkę przez **5 min** przy **10 000 RPM**.
4. Przenieść **300 µl** supernatantu do nowej zamykanej próbówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).
5. Dodać **20 µl Proteinyzy K**.
6. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **15 min** w temp. **50 °C** z funkcją wytrząsania **1400 RPM**.

Informacja. W przypadku braku funkcji wytrząsania, próbkę mieszać kilkakrotnie przez odwracanie próbówki.

Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbki **10 µl RNazy** ([nr kat. 1006-10](#)) i inkubuj przez **10 min** w temp. **37 °C** z funkcją wytrząsania **1400 RPM**.
7. Dodać **75 µl** roztworu precypitującego **L3P**. Zamknąć próbówkę i wymieszać zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie.
8. Umieścić w lodzie na **3 min**.
9. Wirować próbkę przez **5 min** przy **10 000 RPM**.

10. Przenieść **200 µl** supernatantu do nowej zamykanej probówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).
11. Dodać **200 µl** buforu lizującego **BL** i wymieszać przez worteksowanie **10 s**.
12. Dodać **150 µl** roztworu wiążącego **RW** i wymieszać przez worteksowanie **10 s**.
13. Przejdź do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

Kał, odchody, próby środowiskowe (gleba, osady czynne, kompost) przechowywane w roztworze zabezpieczającym

Dodatkowe odczynniki, których będziesz potrzebować:

W przypadku próbek przechowywanych w roztworze zabezpieczającym **StoolSave™ DNA Protection kit** (nr kat. 006-10):

- probówki z kuleczkami cyrkonowymi (2 ml probówka z mieszaną kuleczek na próbkę), nr kat. K-PKCM-50
- roztwór precypitujący **L3P** (75 µl na próbkę), nr kat. K-L3P-60

W przypadku próbek przechowywanych w innym roztworze zabezpieczającym:

Microbiome lysis kit (nr kat. 604MK-50, 604MK-100)

- probówki z kuleczkami cyrkonowymi (2 ml probówka z mieszaną kuleczek na próbkę),
- roztwór precypitujący **L3P** (75 µl na próbkę)
- bufor **LSDE** (400 µl buforu na próbkę)
- antypieniacz (10 µl na próbkę), nr kat. K-AYS-1

1. Próbki przechowywane w roztworze zabezpieczającym StoolSave™ DNA Protection kit:

Przenieść **300 µl** próbki zawieszonej w roztworze zabezpieczającym do 2 ml zakręcannej probówki zawierającej mieszaną kuleczek.
Dodać **300 µl** buforu **LSDE**.

Próbki przechowywane w innym roztworze zabezpieczającym:

Przed rozpoczęciem procesu, należy zmieszać bufor **LSDE** z **antypieniaczem**. Przygotować mieszaninę **LSDE-antypieniacz** przez zmieszanie **400 µl** buforu **LSDE** z **10 µl antypieniacza**/ilość na 1 próbkę. Należy przygotować objętość wystarczającą dla izolowanych próbek z 10% nadmiarem. Przed użyciem wymieszać.

Przenieść **200 µl** próbki zawieszonej w roztworze zabezpieczającym do 2 ml zakręcannej probówki zawierającej mieszaną kuleczek.
Dodać **400 µl** buforu **LSDE-antypieniacz**.

2. **Opcja A:** Liza mechaniczna z wykorzystaniem homogenizatora.
Umieścić próbówki z próbkami w urządzeniu Beadbeater. Ustawić następujący program: **3 x cykl po 20 s z maksymalną siłą**, przerwa na chłodzenie **1 min**.

Opcja B: Umieścić próbówki z próbkami w inkubatorze z funkcją mieszania. Mieszać **30 min w temp. pokojowej przy 2000 RPM**.
3. Wirować przez **5 min** przy **10 000 RPM**.
4. Przenieść **300 µl** supernatantu do nowej zamykanej próbówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).
5. Dodać **20 µl Proteiny K**.
6. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **15 min** w temp. **50 °C** z funkcją wytrząsania **1400 RPM**.

Informacja. W przypadku braku funkcji wytrząsania, próbkę mieszaj kilkakrotnie przez odwracanie próbówki.

Opcjonalne Usuwanie RNA. Dodaj do próbki **10 µl RNazy** ([nr kat. 1006-10](#)) i inkubuj przez **10 min** w temp. **37 °C** z funkcją wytrząsania **1400 RPM**.
7. Dodać **75 µl** roztworu precypitującego **L3P**. Zamknąć próbówkę i wymieszać zawartość poprzez kilkakrotne odwracanie.
8. Umieść w lodzie na **3 min**.
9. Wirować próbkę przez **5 min** przy **10 000 RPM**.
10. Przenieść **200 µl** supernatantu do nowej zamykanej próbówki 1,5 ml (nie ma w zestawie).
11. Dodać **200 µl** buforu lizującego **BL** i wymieszać przez worteksowanie **10 s**.
12. Dodać **150 µl** roztworu wiążącego **RW** i wymieszać przez worteksowanie **10 s**.
13. Prześć do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

Tkanki stałe

1. **10-20 mg** rozdrobnionej tkanki umieścić w probówce zamykanej 1,5 ml (nie ma w zestawie).

Informacja. Tkanę należy pociąć na kawałki lub rozetrzeć w ciekłym azocie.
2. Dodać **200 µl** buforu **LSDE** oraz **20 µl** **Proteinazy K**.

Opcjonalne usuwanie RNA. Do próbek należy dodać po **10 µl** **RNazy** (nr kat. 1006-10).
3. Całość wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować **ok. 2 godz.** do całkowitej lizy materiału w temp. **50 °C**.

Informacja. W celu uzyskania maksymalnej wydajności izolacji, próbkę należy mieszać od czasu do czasu przez worteksowanie.
4. Dodać **200 µl** buforu lizującego **BL**.
5. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **5 min** w temp. **50 °C**.
6. Wirować przez **2 min** przy **15 000 RPM**.
Supernatant przenieść do nowej probówki zamykanej 1,5 ml (nie ma w zestawie).
7. Dodać **150 µl** roztworu wiążącego **RW**.
8. Wymieszać przez worteksowanie **10 s**.
9. Przejść do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

Wymazy suche

1. Złamać lub odciąć część wymazówki z pobraną próbką i umieścić ją w zamykanej probówce 1,5 ml (nie ma w zestawie).
2. Do każdej z próbek dodać **250 µl** buforu **Tris**, **20 µl** **Proteinazy K** oraz **250 µl** buforu lizującego **BL**.

Informacja. Wymazówka powinna być zanurzona w mieszaninie lizującej.
3. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **10 min** w temp. **50 °C**.
Przenieść lizat do nowej probówki zamykanej 1,5 ml (nie ma w zestawie).

4. Dodać **150 µl** roztworu wiążącego **RW**.
5. Wymieszać przez worteksowanie **10 s**.
6. Przejść do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

Protokół izolacji

1. Przygotowane próbki nanieść na wcześniej aktywowane minikolumny.
2. Wirować **1 min** przy **10 000 RPM**.
3. Przenieść minikolumny do **nowych** probówek 2 ml (w zestawie).
4. Dodać po **500 µl** roztworu płuczącego **W10**.
5. Wirować **1 min** przy **10 000 RPM**.
6. Przenieść minikolumny do **nowych** probówek 2 ml (w zestawie).
7. Dodać po **500 µl** roztworu płuczącego **W11**. Wymieszać przez kilkakrotne odwracanie probówki.
Informacja. Mieszanie ma celu usunięcie resztek roztworu płuczącego z wewnętrznych ścianek kolumny.
8. Wirować **1 min** przy **10 000 RPM**.
9. Wyjąć minikolumny z probówek. Wylać przesącz.
Osuszyć brzegi probówek z resztek roztworu płuczącego poprzez odwracanie probówki do góry dnem lekko dotykając o ręcznik papierowy.
Ponownie włożyć minikolumny do **tych samych** probówek.
10. Dodać po **400 µl** roztworu płuczącego **W11**.
11. Wirować **1 min** przy **15 000 RPM**.
12. Przenieść minikolumny do **nowych** probówek 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).

13. Na złoża na dnie minikolumn nanieść po **100 µl** buforu **Tris**.
14. Inkubować próbki przez **2 min** w **temp. pokojowej**.
15. Wirować **1 min** przy **10 000 RPM**.
16. Usunąć minikolumny, a oczyszczone DNA znajdujące się w probówkach przechowywać w temp. +4 °C lub -20 °C do czasu dalszych analiz.

Informacje dodatkowe

W końcowym eluacie DNA mogą znajdować się śladowe ilości drobinek pochodzących z membrany kolumny. Drobinki nie mają wpływu na jakość wyizolowanego DNA. Mogą mieć jednak znaczenie przy odczytach spektrofotometrycznych (A 230/260). Z tego względu przed badaniem spektrofotometrycznym, zaleca się zwirowanie eluatu przez 1 min przy maksymalnych obrotach i pobranie do odczytu próbki z górnej warstwy zwirowanego roztworu.

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.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

RW roztwór wiążący

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

W10 roztwór płuczący

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

H302 Działa szkodliwie po połknięciu.

H315 Działa drażniąco na skórę.

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

W11 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

wersja 2025-3

