

Instrukcja

Blood Mini

Zestaw do izolacji genomowego DNA z krwi.

numer katalogowy	wielkość
022-50	50 izolacji
022-250	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
Przygotowanie materiału	4
Krew świeża lub mrożona (do 100 µl)	4
Krew świeża lub mrożona (200 µl - 1 ml)	4
Protokół izolacji	5
Informacje Bezpieczeństwa	7

Skład

składnik	50 izolacji	250 izolacji	przechowywanie
Minikolumny	50 szt.	250 szt.	15–25 °C
Probówki 2 ml	50 szt.	250 szt.	15–25 °C
LE roztwór do lizy erytrocytów	30 ml	140 ml	15–25 °C
LT roztwór lizujący	13 ml	60 ml	15–25 °C
A1 roztwór płuczący	50 ml	250 ml	15–25 °C
Bufor Tris (10 mM, pH 8,5)	25 ml	110 ml	15–25 °C
Proteinaza K	1,1 ml	5 x 1,1 ml	4–8 °C

Uwaga: jeżeli w roztworze lizującym LT pojawił się precipitat, należy podgrzać roztwór do temp. 40 °C do momentu rozpuszczenia precipitatu i uzyskania klarowności.

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 1,5 ml, 2 ml typu Eppendorf
- Inkubator lub termoblok 37 °C, 75 °C (zalecany Thermomixer firmy Eppendorf)
- Worteks
- Mikrowirówka

Przygotowanie materiału

Krew świeża lub mrożona (do 100 µl)

1. Przenieść **100 µl** krwi do probówki 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).

Uwaga: w przypadku mniejszej ilości krwi niż 100 µl należy dodać buforu Tris do całkowitej objętości 100 µl.

2. Przejść do punktu 1. protokołu izolacji.

Krew świeża lub mrożona (200 µl - 1 ml)

1. Przenieść odpowiednią ilość krwi do probówki 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).

Dodać **połowę objętości** roztworu **LE** do lizy erytrocytów, np. do 500 µl krwi dodać po **250 µl** roztworu **LE**.

2. Całość wymieszać przez odwracanie probówki, aż roztwór z mętnego zmieni barwę na szkarłatnie przezroczysty.
3. Wirować **3 min** przy **10 000-15 000 RPM**.
4. Usunąć supernatant. Do osadu stanowiącego frakcję białych krwinek dodać po **100 µl** buforu **Tris** i dokładnie zawiesić przez pipetowanie.
5. Przejść do punktu 1. protokołu izolacji.

W przypadku większych objętości krwi, zalecamy zastosowanie zestawów Genomic Midi AX (nr kat. 895-20) lub Genomic Maxi AX (nr kat. 995-10).

Protokół izolacji

Przestawić termoblok na 75 °C i umieścić w nim próbówki z buforem elucyjnym Tris, który będzie wykorzystywany w punkcie 12. protokołu.

1. Do przygotowanych próbek dodać po **200 µl** roztworu lizującego **LT** i **20 µl** **proteiny K**.
2. Całość wymieszać i inkubować przez **20 min** w temp. **37 °C**.
3. Półki intensywnie worteksować przez **20 s** i nanieść na minikolumny.
4. Wirować **1 min** przy **10 000-15 000 RPM**.
5. Wyjąć minikolumny z próbek. Wylać przesącz. Ponownie włożyć minikolumny do **tych samych** próbek.
6. Dodać po **500 µl** roztworu płuczącego **A1**.
7. Wirować **1 min** przy **10 000-15 000 RPM**.
8. Przenieść minikolumny do **nowych** próbek 2 ml (w zestawie).
9. Dodać po **400 µl** roztworu płuczącego **A1**.
10. Wirować **2 min** przy **10 000-15 000 RPM**.
11. Przenieść minikolumny do **nowych** próbek 1,5 ml (nie ma w zestawie).
12. Na złoża na dnie minikolumn nanieść po **100 µl** lub **200 µl** buforu **Tris** uprzednio ogrzanego do temp. **75 °C**.

Uwaga: W przypadku izolacji DNA ze 100 µl krwi, należy dodać po 100 µl buforu Tris. W przypadku izolacji DNA z większej objętości, należy dodać po 200 µl buforu Tris.
13. Inkubować próbki przez **5 min** w temp. **pokojowej**.
14. Wirować **1 min** przy **10 000-15 000 RPM**.
15. Usunąć minikolumny, a oczyszczone DNA znajdujące się w próbkach przechowywać w temp. **+4 °C** lub **-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

LT roztwór 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.



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

