

Instrukcja

Genomic Midi AX Plant

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

numer katalogowy	wielkość
050-20M	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 wchodzi w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Spis treści

Skład	3
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	3
Niezbędne	3
Opcjonalne	3
Protokół izolacji	4
Biały precipitat jest widoczny	5
Biały precipitat nie jest widoczny	5
Informacje Bezpieczeństwa	6

Skład

składnik	20 izolacji	przechowywanie
Kolumny Spin 100AX	20 szt.	2–8 °C
Probówki 15 ml	40 szt.	15–25 °C
Kolumna równoważąca	1 szt.	15–25 °C
LS zawiesnia lizująca	110 ml	15–25 °C
K2 roztwór płuczący	110 ml	15–25 °C
K3 roztwór elucyjny	25 ml	15–25 °C
TE bufor	100 ml	15–25 °C
Izopropanol	20 ml	15–25 °C
Proteinaza K	2 x 1,1 ml	4–8 °C

Pojemność kolumny do oczyszczania DNA wynosi 100 µg.

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 2 ml typu Eppendorf
- Probówki 15 ml typu Falcon
- 70% etanol
- Inkubator lub termoblok 50 °C (zalecany Thermomixer firmy Eppendorf)
- Worteks
- Wirówka z rotorem uchylnym
- Mikrowirówka

Opcjonalne

- RNAza (nr kat. 1006-10, 1006-50)
- Woda jałowa (nr kat. 003-075, 003-25)

Protokół izolacji

1. Przenieść maksymalnie **200 mg** suchej sproszkowanej masy roślinnej lub **1 g** świeżej / mrożonej rozdrobnionej masy roślinnej do probówki 15 ml typu Falcon (nie ma w zestawie).
2. **Uwaga:** Zawiesinę lizującą LS należy wymieszać przed użyciem przez kilkakrotne odwracanie butelki.

Dodać po **5 ml** zawiesiny lizującej **LS** i **100 µl** **proteiny K**.
3. Próbkę zworteksować i inkubować przez **30 min** w temp. **50 °C**. Podczas inkubacji próbki kilkakrotnie mieszać przez odwracanie probówki.

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

Opcjonalne usuwanie RNA: do próbki należy dodać po 10 µl RNAzy (10 mg/ml) (nie ma w zestawie). Całość wymieszać i pozostawić próbkę na 5 min w temp. pokojowej.
4. Po inkubacji próbkę intensywnie worteksować przez **15 s**.
Wirować w rotorze uchylnym przez **5 min** przy **10 000 RPM**.

Na dnie probówki powinien znajdować się zwarty osad stanowiący mieszaninę niezlizowanego materiału oraz drobinek pochodzących z zawiesiny lizującej.
5. Supernatant nanieść na kolumnę Spin 100AX umieszczoną w probówce 15 ml.

Uwaga: W przypadku nieparzystej ilości próbek należy użyć do zrównoważenia kolumny równoważającej, dodając do niej odpowiednie ilości wody lub dowolnego roztworu równoważającego.

Wirować w rotorze uchylnym przez **2 min** przy **3000 RPM** (1500 x g).
6. Kolumnę Spin 100AX przenieść do **nowej** probówki 15 ml (w zestawie).
7. Dodać po **2,5 ml** roztworu płuczącego **K2**.
Wirować w rotorze uchylnym przez **2 min** przy **3000 RPM** (1500 x g).
8. Ponownie dodać po **2,5 ml** roztworu płuczącego **K2**.
Wirować w rotorze uchylnym przez **2 min** przy **3000 RPM** (1500 x g).
9. Kolumnę Spin 100AX przenieść do **nowej** probówki 15 ml (w zestawie).
10. Dodać po **550 µl** roztworu elucyjnego **K3** i poczekać **2 min**.
11. Wirować w rotorze uchylnym przez **1 min** przy **3000 RPM** (1500 x g).

12. Dodać po **550 µl** roztworu elucyjnego **K3**.
Wirować w rotorze uchylnym przez **1 min** przy **3000 RPM** (1500 x g). Usunąć kolumnę Spin 100AX.
13. Eluat przenieść do probówki **2 ml** (nie ma w zestawie).
14. Dodać po **880 µl izopropanolu**. Zamknąć wieczko i wymieszać przez kilkakrotne odwracanie probówki.
Jeśli jest widoczny biały precypitat, należy przejść do punktu A.
Jeśli biały precypitat nie jest widoczny, należy przejść do punktu B.

A. Biały precypitat jest widoczny

1. Wirować przez **2 min** przy **4000 RPM**. Ostrożnie usunąć supernatant.
2. Dodać po **500 µl 70% etanolu** (nie ma w zestawie).
3. Wirować przez **2 min** przy **4000 RPM**. Ostrożnie usunąć supernatant.
4. Odwrócić probówkę z osadem DNA i suszyć odwróconą do góry dnem przez **10 min** w temp. pokojowej.

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

5. Zawiesić osad DNA w odpowiedniej ilości buforu **TE** (w zestawie) lub **wody jałowej wolnej od nukleaz** (nie ma w zestawie).

W celu przyspieszenia rozpuszczania DNA można inkubować próbkę w temp. 50 °C od czasu do czasu delikatnie wstrząsając.

6. Oczyszczone DNA przechowywać w temp. 4-8 °C lub -20 °C do czasu dalszych analiz.

B. Biały precypitat nie jest widoczny

1. Przenieść próbkę do nowej probówki wirówkowej dostosowanej do wysokich prędkości wirowania.
Wirować przez **15 min** przy **12 000-14 000 RPM**. Ostrożnie usunąć supernatant.
2. Dodać po **500 µl 70% etanolu** (nie ma w zestawie).
3. Wirować przez **5 min** przy **12 000-14 000 RPM**. Ostrożnie usunąć supernatant.
4. Odwrócić probówkę z osadem DNA i suszyć odwróconą do góry dnem przez **10 min** w temp. pokojowej.

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

5. Zawiesić osad DNA w odpowiedniej ilości buforu **TE** (w zestawie) lub **wody jałowej wolnej od nukleaz** (nie ma w zestawie).

W celu przyspieszenia rozpuszczania DNA można inkubować próbkę w temp. 50 °C od czasu do czasu delikatnie wstrząsając.

6. Oczyszczone DNA przechowywać w temp. 4-8 °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

LS zawiesina lizująca

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

Izopropanol

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

