

Instrukcja

Genomic Mini AX Body Fluids

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

numer katalogowy	wielkość
052-20M	20 izolacji
052-40M	40 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:

- odstąpienia 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
Ważne informacje	4
Protokół	4
Informacje bezpieczeństwa	6

Skład

składnik	20 izolacji	40 izolacji	przechowywanie
Kolumny Genomic Mini AX	20 szt.	40 szt.	2–8 °C
Probówki 15 ml	20 szt.	40 szt.	15–25 °C
Probówki 2 ml	20 szt.	40 szt.	15–25 °C
L1.4 roztwór lizujący	45 ml	90 ml	15–25 °C
K1 roztwór równoważący	20 ml	40 ml	15–25 °C
K2 roztwór płuczący	70 ml	135 ml	15–25 °C
K3 roztwór elucyjny	25 ml	50 ml	15–25 °C
PM mieszanina precypitacyjna	20 ml	40 ml	15–25 °C
Bufor TE	5 ml	16 ml	15–25 °C
Proteinaza K	1,1 ml	2 x 1,1 ml	2–8 °C

Pojemność minikolumny do oczyszczania DNA wynosi 20 µg.

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 15 ml typu Falcon
- 70% etanol
- Inkubator lub termoblok 50 °C (zalecany Thermomixer firmy Eppendorf)
- Wirówka

Ważne informacje

- Proces oczyszczania DNA na kolumnie można przerwać w dowolnym momencie i kontynuować nawet po upływie 15 godzin bez wpływu na jakość i ilość uzyskanego DNA. Podczas takiej przerwy należy pamiętać o zamknięciu probówki, w której znajduje się kolumna.

Protokół

- Przenieść maksymalnie **2 ml** płynów ustrojowych (np. osocze, mocz, płyn owodniowy) do probówki 15 ml typu Falcon (nie ma w zestawie).
- Dodać po **1 objętości** roztworu lizującego **L1.4** (np. do próbki 2 ml dodać po 2 ml roztworu lizującego L1.4) i **50 µl** **proteiny K**.
- Wymieszać próbkę i inkubować przez **15 min** w temp. **50 °C**. Podczas inkubacji próbki kilkakrotnie mieszać przez odwracanie probówki.
- W trakcie inkubacji przygotować kolumny Genomic Mini AX będące w probówkach 15 ml. Nanieść na kolumnę po **800 µl** roztworu równoważącego **K1**. Poczekać, aż roztwór wypłynie z kolumny.
- Po inkubacji próbkę w całości nanieść na zrównoważoną kolumnę Genomic Mini AX. Poczekać, aż lizat wypłynie z kolumny.

Kolumna pracuje grawitacyjnie. Szybkość przepływu zależy od ilości oraz wielkości cząstek DNA. Duża ilość DNA powoduje spowolnienie przepływu, a przy znacznym przeładowaniu kolumny może dojść nawet do całkowitego jej zablokowania. W takim przypadku należy wirować kolumny wraz z probówkami w rotorze uchylnym przez 1 min przy 3000-4000 RPM. Wirowanie można przeprowadzić zarówno po naniesieniu próbek (pkt 5) jak i podczas płukania roztworem płuczącym K2 (pkt 7 i 8).
- Przenieść kolumnę Genomic Mini AX do **nowej** probówki **15 ml** (w zestawie).
- Nanieść po **1,5 ml** roztworu płuczącego **K2** na kolumnę Genomic Mini AX. Poczekać, aż roztwór wypłynie z kolumny.
- Ponownie nanieść po **1,5 ml** roztworu płuczącego **K2** na kolumnę Genomic Mini AX. Poczekać, aż roztwór wypłynie z kolumny.
- Nanieść po **100 µl** roztworu elucyjnego **K3 bezpośrednio na membranę** kolumny Genomic Mini AX. Poczekać, aż eluat wypłynie z kolumny.

Uwaga: Krok ten ma na celu zmniejszenie całkowitej objętości eluatu, gdyż martwa objętość kolumny wynosi 100 µl.
- Przenieść kolumnę Genomic Mini AX do probówki precypitacyjnej **2 ml** (w zestawie).

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

11. Nanieść po **1 ml** roztworu elucyjnego **K3** na kolumnę Genomic Mini AX. Poczekać, aż eluat wypłynie z kolumny. Usunąć kolumnę Genomic Mini AX.
12. **Uwaga:** Mieszanina precypitacyjna PM zawiera dodatkowo wzmacniacz precypitacji, dlatego przed użyciem należy ją wymieszać przez kilkakrotne odwracanie butelki.

Do eluatów dodać po **800 µl** mieszaniny precypitacyjnej **PM**.
13. Wymieszać i wirować przez **10 min** przy **10 000 RPM (~10 000 x g)**.

Na dnie powinien być widoczny jasnoniebieski osad DNA.
14. 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 próbówki, tak aby można było go odzyskać.
15. Dodać po **500 µl 70% etanolu** (nie ma w zestawie).
Całość wymieszać i wirować przez **3 min** przy **10 000 RPM (~10 000 x g)**.

Na dnie powinien być widoczny jasnoniebieski osad DNA.
16. 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 próbówki, tak aby można było go odzyskać..
17. Odwrócić próbówkę z osadem DNA i suszyć odwróconą do góry dnem przez **5 min** w **temp. pokojowej**.

Uwaga: Jeżeli na ściankach próbówki wciąż znajdują się resztki alkoholu, należy je osuszyć przy pomocy patyczków higienicznych.
18. Rozpuścić osad DNA w odpowiedniej ilości buforu **TE**.

Niebieska barwa osadu umożliwia śledzenie procesu rozpuszczania DNA.
19. 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.

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

L1.4 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.



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

