

Instrukcja

Clean-Up AX

Zestaw o zwiększonej wydajności do oczyszczania DNA po reakcji PCR i innych reakcjach enzymatycznych (m.in. trawieniu enzymami restrykcyjnymi, kinazowaniu, ligacji, itp.).

Procedura z precipitacją DNA.

numer katalogowy	wielkość
026-50	50 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
Opcjonalne	3
Dodatkowe informacje	3
Protokół izolacji	4
Informacje Bezpieczeństwa	6

Skład

składnik	50 izolacji	przechowywanie
Kolumny Spin 10AX	50 szt.	4-8 °C
Probówki 2 ml	50 szt.	temp. pok.
P1 roztwór oczyszczający	30 ml	temp. pok.
K2 roztwór płuczący	55 ml	temp. pok.
K4 roztwór elucyjny	30 ml	temp. pok.
PM mieszanina precypitacyjna	25 ml	temp. pok.
Proteinaza K	300 µl	4-8 °C
TE bufor	5 ml	temp. pok.

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

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

Opcjonalne

- Woda jałowa (nr kat. 003-075, 003-25)
- Bufor Tris (10 mM, pH 8,0) (nr kat. 202-50, 202-150)

Dodatkowe informacje

- Pojemność kolumny: do 10 µg DNA
- Zakres wielkości fragmentów DNA: 100 pz-20 000 pz

Protokół izolacji

1. Do próbek (10-200 µl) zawierających DNA dodać po **500 µl** roztworu oczyszczającego **P1** i **5 µl** **proteiny K**.
- 2.. Wymieszać próbki lub je zworteksować, inkubować **10 min** w temp. **50 °C**.
3. Próbkę nanieść na kolumny Spin 10AX.
4. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.
5. Wyjąć kolumny Spin 10AX z próbek, wyłączyć przesącz. Włożyć kolumny Spin 10AX do **tych samych** próbek.
6. Dodać po **500 µl** roztworu płuczącego **K2**.
7. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.
8. Wyjąć kolumny Spin 10AX z próbek, wyłączyć przesącz. Włożyć kolumny Spin 10AX do **tych samych** próbek.
9. Dodać po **500 µl** roztworu płuczącego **K2**.
10. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.
11. Przenieść kolumny Spin 10AX do **nowych** próbek 2 ml (w zestawie).
12. Dodać po **250 µl** roztworu elucyjnego **K4**. Probki pozostawić na **2 min** w temp. **pokojoyej**.
13. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.
14. Dodać po **250 µl** roztworu elucyjnego **K4**. Probki pozostawić na **2 min** w temp. **pokojoyej**.
15. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**. Usunąć kolumny Spin 10AX.
16. Mieszanina precypitacyjna PM zawiera wzmacniacz precypitacji, dlatego przed użyciem mieszaniny PM należy ją wymieszać poprzez kilkakrotne odwracanie butelki.

Do przesącza zawierającego DNA dodać po **400 µl** mieszaniny precypitacyjnej **PM**.

17. Wymieszać przez kilkakrotne odwracanie probówek.
Wirować **10 min** przy **10 000 RPM (9000 xg)**.

18. Usunąć supernatant, uważając aby nie usunąć niebieskich osadów DNA.

Na dnie probówki powinien być widoczny jasnoniebieski osad DNA. Niebieska barwa osadu umożliwia śledzenie procesu rozpuszczania DNA.

19. Dodać po **500 µl 70% etanolu** (nie ma w zestawie). Wymieszać.
Wirować **3 min** przy minimum **10 000 RPM (9000 xg)**.

20. Usunąć supernatant. Osady DNA suszyć przez odwrócenie probówek przez **5 min** w **temp. pokojowej**.

Jeżeli na ściankach probówki znajdują się resztki alkoholu, należy je osuszyć kawałkiem jałowej waty (doskonale nadają się do tego patyczki higieniczne lub pałeczki do pobierania wymazów).

21. Osady zawiesić w buforze **TE** lub wodzie jałowej wolnej od nukleaz (nie ma w zestawie) albo buforze Tris (nie ma w zestawie).

Niebieska barwa osadu umożliwia śledzenie procesu rozpuszczania DNA.

22. Oczyszczone DNA znajdujące się w probówkach przechowywać w temp. 4-8°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

Osrodkiem Zatruc lub lekarzem.



UWAGA

P1 roztwór oczyszczający

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

K4 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

