

A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

Blood Mini

zestaw do izolacji genomowego DNA z krwi
wersja 0617

50 izolacji, 250 izolacji

Nr kat. 022-50, 022-250

Pojemność minikolumny do oczyszczania DNA wynosi 20 µg.

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Skład zestawu

| Składnik | 50 izolacji | 250 izolacji | Temperatura Przechowywania |
|--|-------------|--------------|----------------------------|
| Minikolumny | 50 szt. | 250 szt. | Temp. Pok. |
| Probówki 2 ml | 50 szt. | 250 szt. | Temp. Pok. |
| LE roztwór do lizy erytrocytów | 30 ml | 140 ml | Temp. Pok. |
| LT roztwór lizujący | 12 ml | 55 ml | Temp. Pok. |
| A1 roztwór płuczący | 50 ml | 250 ml | Temp. Pok. |
| Bufor elucyjny Tris (10 mM, pH 8,5) | 25 ml | 110 ml | Temp. Pok. |
| Proteinaza K | 1,1 ml | 5 x 1,1 ml | +4 do +8 °C |

Wyposażenie i materiały niezbędne do izolacji DNA, które nie wchodzą w skład zestawu

1. Materiał do izolacji DNA
2. Probówki o poj. 1,5 ml i 2 ml typu Eppendorf
3. Inkubator lub termoblok 37 °C, 75 °C
4. Vortex
5. Mikrowirówka

UWAGA:

Przed przystąpieniem do pracy zalecamy oczyszczenie powierzchni roboczej używając produktu LabZAP™ (nr kat. 040–500)

Ilustracje zamieszczone w niniejszym protokole mają jedynie charakter poglądowy. Ich rzeczywisty wygląd, w tym kolor, może odbiegać od prezentowanych w grafice.

Firma A&A Biotechnology udziela rocznej gwarancji na niniejszy zestaw. Firma nie gwarantuje poprawnego działania zestawu do izolacji DNA w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z zestawem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzą w skład zestawu
- użycia przeterminowanych lub niewłaściwie przechowywanych odczynników oraz minikolumn

Przygotowanie materiału

A. Krew świeża lub mrożona (do 100 μ l)

1. Przenieść **100 μ l krwi** do probówki o poj. 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).

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

2. Przejść do punktu 1. protokołu izolacji DNA.

B. Krew świeża lub mrożona (200 μ l–1 ml)

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

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

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 μ l** buforu **Tris** i dokładnie zawiesić przez pipetowanie.

5. Przejść do punktu 1. protokołu izolacji DNA.

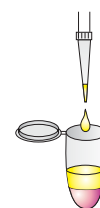
Uwaga:

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

1. Do przygotowanych próbek dodać po 200 μ l roztworu lizującego LT oraz 20 μ l Proteinyzy K.

Uwaga: jeżeli w roztworze lizującym LT pojawił się precypitat, należy podgrzać roztwór lizujący LT do temp. 40 °C do momentu rozpuszczenia precypitatu.



2. Całość wymieszać i inkubować przez 20 min w temp. 37 °C.



37 °C

3. Przetawić termoblok na 75 °C i umieścić w nim próbki z buforem elucyjnym Tris, który będzie wykorzystywany w punkcie 10. protokołu.

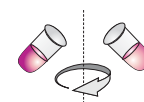


75 °C

4. Próbkę intensywnie wortexować przez 20 s i nanieść na minikolumny.



5. Wirować 1 min przy 10 000–15 000 RPM.

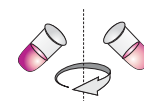


6. Wyjąć minikolumny z próbek. Wylać przesącz. Ponownie włożyć minikolumny do tych samych próbek.

Dodać po 500 μ l roztworu płuczącego A1.



7. Wirować 1 min przy 10 000–15 000 RPM.

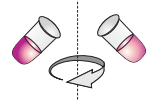


8. Przenieść minikolumny do nowych próbek 2 ml (w zestawie).

Dodać do minikolumn po 400 μ l roztworu płuczącego A1.



9. Wirować 2 min przy 10 000–15 000 RPM.



10. Osuszone minikolumny przenieść do nowych probówek 1,5 ml (nie ma w zestawie).

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.

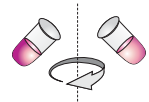


11. Inkubować próbki przez 5 min w temp. pokojowej.



temp. pok.

12. Wirować 1 min przy 10 000–15 000 RPM.



13. Usunąć minikolumny, a oczyszczone DNA znajdujące się w probówkach przechowywać w temp. +4 °C lub -20 °C do czasu dalszych analiz.

Produkty powiązane

| Produkt | Ilość | Nr kat. |
|---------------------------------|--------------|------------|
| Genomic Mini AX Blood | 60 izolacji | 052-60 |
| Genomic Mini AX Blood 300 Spin | 100 izolacji | 052-100S03 |
| Genomic Mini AX Blood 1000 Spin | 100 izolacji | 052-100S1 |
| Genomic Micro AX Blood Gravity | 100 izolacji | 101-100 |
| Xpure™ Blood Mini | 50 izolacji | 097-50 |
| Genomic Midi AX | 20 izolacji | 895-20 |
| Genomic Midi AX Direct | 20 izolacji | 895-20D |
| Genomic Maxi AX | 10 izolacji | 995-10 |
| Genomic Maxi AX Direct | 10 izolacji | 995-10D |
| Sherlock AX | 25 izolacji | 095-25 |
| | 100 izolacji | 095-100 |
| Sherlock AX Direct | 100 izolacji | 095-100D |

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.

Notatki: