

## GeneMAGNET PCR / DNA Clean-Up Purification Kit

Zestaw do oczyszczania produktów PCR / DNA po obróbce enzymatycznej

● **kat. nr E3420**

EURx Ltd. 80-297 Gdansk Poland  
ul. Przyrodników 3, NIP 957-07-05-191  
KRS 0000202039, [www.eurx.com.pl](http://www.eurx.com.pl)  
orders: email: [orders@eurx.com.pl](mailto:orders@eurx.com.pl)  
tel. +48 58 524 06 97, fax +48 58 341 74 23





## Spis treści

Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika .....	2
Uwagi wstępne.....	3
Protokół.....	4
Środki ostrożności.....	5

Składniki zestawu	96 izolacji E3420-01	Warunki przechowywania
Orange DX	48 ml	15-25°C
Wash DX1	60 ml	15-25°C
Wash DX2	80 ml	15-25°C
Elution	20 ml	15-25°C
Magnetic Beads	1000 µl	2-8°C
Protokół	1	

### Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika

- Statyw magnetyczny EURx nr kat. E0361 na 16 probówek, nr kat. E0362 na 24 probówki, E0363 na płytki 96 dołkowe. Statywy do zakupienia oddzielnie.
- Worek, rękawiczki, jałowe tipsy, jałowe probówki 1.5-2 ml lub płytki 96 dołkowe o objętości 600 µl - 800 µl, pipety.

# Uwagi wstępne

**UWAGA 1 · Przeznaczenie zestawu.** Zestaw pozwala na szybkie oczyszczenie produktów PCR, fragmentów restrykcyjnych i molekuł DNA po obróbce enzymatycznej oraz znakowaniu izotopowym lub chemicznym. Zestaw PCR / DNA Clean-Up selektywnie usuwa primery pozostałe po reakcji PCR (poniżej 40 nt) oraz fragmenty dwuniciowego DNA poniżej 20 pz. Należy zwrócić uwagę, że często występujące w nieoptymalizowanych lub problematycznych reakcjach PCR krótkie produkty uboczne znane jako ang. primer-dimers (powstające w wyniku auto- hybrydyzacji primerów oraz niezależnej od matrycy amplifikacji), zbudowane są z dwuniciowego DNA i na żelu migrują podobnie do niewykorzystanych w reakcji jednoniciowych primerów. Jeśli długość primer-dimers przekracza 20 pz będą one oczyszczane wraz z właściwym produktem PCR. Jeśli konieczne jest usunięcie primer-dimers, polecamy optymalizację reakcji PCR lub elektroforetyczny rozdział produktów PCR, a następnie wycięcie prążków DNA z żelu i wykorzystanie naszego zestawu Agarose-Out DNA Purification Kit (nr kat. E3540) opartego na użyciu kolumnienek.

**UWAGA 2 · Zalecana ilość materiału i objętości buforów do oczyszczania.** W celu poprawnego oczyszczenia mieszaniny DNA należy postępować zgodnie z protokołem zamieszczonym na stronie 4. Maksymalna objętość oczyszczanego DNA na jedną izolację to 150 µl. W razie potrzeby objętość oczyszczanego DNA można zwiększyć, zwiększając proporcjonalnie objętości buforów do oczyszczania. Np. do 300 µl mieszaniny DNA dodać 900 µl Orange DX i 20 µl kuleczek magnetycznych. Ilość buforów do płukania i elucji użyć wg. protokołu na stronie 4. Należy zwrócić uwagę na ograniczenia spowodowane pojemnością probówki.

Dostosowanie protokołu do specyficznych potrzeb jest możliwe przy zastosowaniu optymalizacji metody. Przykładowo: możliwe jest przeprowadzenie oczyszczania DNA na płytkach bezpośrednio po reakcji PCR przy objętości roboczej dołka 200 µl. Należy wówczas stosować nie więcej niż 50 µl mieszaniny po reakcji PCR, dodać 3 objętości buforu Orange DX, 10 µl kuleczek magnetycznych i wykonać płukania buforami Wash DX1 i Wash DX2 w objętości 200 ul. Przed dodaniem buforu Elution bardzo dokładnie oczyścić dno i ścianki dołków z resztek etanolu z buforu Wash DX2. Ilość buforu do elucji użyć wg. protokołu na stronie 4. Nie worteksować płytki, stosując mieszanie przez pipetowanie, aby nie zanieczyścić sąsiadujących dołków.

**UWAGA 3 · Przechowywanie składników zestawu.** Po rozpakowaniu, odczynniki do oczyszczania DNA należy przechowywać w temperaturze pokojowej, a kuleczki magnetyczne w temperaturze 2-8°C. W wypadku krystalizacji komponentów przechowywanych buforów, roztwory należy podgrzać do 37°C, aż do całkowitego wyklarowania.

**UWAGA 4 · Dobra praktyka laboratoryjna.** Wszelkie roztwory z zestawu należy przechowywać szczelnie zamknięte, aby uniknąć zmiany stężeń w wyniku parowania.

**UWAGA 5 · Elution jest buforem o niskiej zawartości soli, w składzie nie zawiera chelatorów jonów metali (np. EDTA), które mogą hamować reakcje enzymatyczne.** DNA rozpuszczone w buforze Elution może być wykorzystane do trawienia enzymami restrykcyjnymi, kinazowania, ligacji, sekwencjonowania metodą Sangera lub NGS itd. DNA można też wymyc z kolumnienki z użyciem Tris-HCl, wody lub TE.

# Protokół

1. Dodać 3 objętości buforu **Orange DX** do 1 objętości roztworu DNA i wymieszać.
  - o Przykładowo: dodać 300  $\mu$ l buforu Orange DX do 100  $\mu$ l roztworu DNA.
  - o Maksymalna ilość roztworu DNA użytego na 1 izolację to 150  $\mu$ l.
2. Bardzo dokładnie worteksować próbówkę z kuleczkami magnetycznymi (**Magnetic Beads**), a następnie dodać 10  $\mu$ l roztworu kuleczek magnetycznych do mieszaniny z roztworem DNA.
3. Mieszaninę z roztworem DNA i kuleczkami magnetycznymi worteksować 1 min.
4. Umieścić próbkę na statywie magnetycznym i odczekać do momentu całkowitego przyciągnięcia kuleczek magnetycznych do magnesu.
5. Trzymając próbkę na statywie magnetycznym usunąć roztwór pipetą nie naruszając kuleczek magnetycznych.
6. Przełożyć próbkę na zwykły statyw (usunąć magnes), dodać 500  $\mu$ l buforu płuczającego **Wash DX1** do próbki i worteksować przez 10 s.
7. Trzymając próbkę na statywie magnetycznym usunąć roztwór nie naruszając kuleczek magnetycznych.
8. Przełożyć próbkę na zwykły statyw (usunąć magnes), dodać 300  $\mu$ l buforu płuczającego **Wash DX2** do próbki i worteksować przez 10 s.
9. Powtórzyć punkt 7 i 8.
10. Trzymając próbkę na statywie magnetycznym usunąć roztwór pipetą nie naruszając kuleczek magnetycznych.
  - o Wybrać resztkę DX2 z dna próbki za pomocą pipety automatycznej.
11. Zostawić otwartą próbkę na statywie magnetycznym przez 15 min w celu odparowania resztek alkoholu.
  - o alkohol należy możliwie najlepiej usunąć z dna i ścianek próbki.
12. Dodać do próbki 50-100  $\mu$ l buforu **Elution**, dokładnie wymieszać i inkubować 2-5 min.
  - o Do elucji DNA zaleca się użycie buforu Elution, który sporządzono na bazie ultra-czystej wody ze śladowym dodatkiem czynnika buforującego. Bufor Elution pozwala na uzyskanie najwyższej wydajności elucji oraz nie interferuje z późniejszymi sekwencjonowaniem DNA, ligacją, trawieniem enzymami restrykcyjnymi oraz innymi aplikacjami biologii molekularnej.
  - o Możliwe jest zmniejszenie objętości elucyjnej poniżej 50  $\mu$ l w celu zażycia próbki.
13. Umieścić próbkę na statywie magnetycznym. Po separacji kuleczek od roztworu, przenieść roztwór DNA do nowej próbki. DNA jest gotowe do dalszych analiz/manipulacji, może być przechowywane w 2-8°C lub zamrożone w -20°C.

# Środki ostrożności

## Orange DX



### Niebezpieczeństwo

**H302+H332** Działa szkodliwie po połknięciu lub w następstwie wdychania.

**H315** Działa drażniąco na skórę.

**H319** Działa drażniąco na oczy.

**H334** Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.

**H317** Może powodować reakcję alergiczną skóry.

**P261** Unikać wdychania par/ rozpylonej cieczy.

**P280** Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

**P301+P312** W przypadku połknięcia: w przypadku złego samopoczucia skontaktować się z ośrodkiem zatruc/ lekarzem.

**P304+P340** W przypadku dostania się do dróg oddechowych: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania.

**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.

**P337+P313** W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

**P342+P311** W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: skontaktować się z ośrodkiem zatruc/ lekarzem.

**P333+P313** W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

**P302+P352** W przypadku kontaktu ze skórą: umyć dużą ilością wody.



## Wash DX1



### Uwaga

**H226** Łatwopalna ciecz i pary.

**H302+H332** Działa szkodliwie po połknięciu lub w następstwie wdychania.

**H315** Działa drażniąco na skórę.

**H319** Działa drażniąco na oczy.

**P210** Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić.

**P261** Unikać wdychania par/ rozpylonej cieczy.

**P280** Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

**P301+P312** W przypadku połknięcia: w przypadku złego samopoczucia skontaktować się z ośrodkiem zatruc/ lekarzem.

**P304+P340** W przypadku dostania się do dróg oddechowych: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania.

**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.

**P337+P313** W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

**P403+P235** Przechowywać w dobrze wentylowanym miejscu. Przechowywać w chłodnym miejscu.



## Wash DX2



### Niebezpieczeństwo

**H225** Wysoce łatwopalna ciecz i pary.

**H319** Działa drażniąco na oczy.

**P210** Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić.

**P280** Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

**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.

**P337+P313** W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

**P403+P235** Przechowywać w dobrze wentylowanym miejscu. Przechowywać w chłodnym miejscu.



**DOBÓR ZESTAWU  
W ZALEŻNOŚCI OD RODZAJU  
IZOLOWANEGO MATERIAŁU**

		PRZEWODNIK PO ZESTAWACH DO IZOLACJI KWASÓW NUKLEINOWYCH																					
		E3600	E3865	E3940	E3980	E3910	E3945	E3960	E3955	E3925	E3920	E3995	E3935	E3900	E3865	E3915	E3970	E3975	E3930	E3950	E3951		
		MICELLULIA DNA <sup>1</sup>	GRAM PLUS & YEAST GENOMIC DNA	AGAROSE - OUT DNA	BACTERIAL & YEAST GENOMIC DNA	BIO - TRACE DNA	BASIC DNA	BONE DNA	CELL CULTURE DNA	FOOD EXTRACT DNA	PCR / DNA CLEANUP	PLANT & FUNGI DNA	AGROBACTERIUM PLASMID DNA	PLASMID MINIPREP DNA	QUICK BLOOD DNA	SHORT DNA CLEAN-UP	SOIL DNA	STOOL DNA	SWAB EXTRACT DNA	TISSUE DNA	TISSUE & BACTERIAL DNA		
		DOSTĘPNA ILOŚĆ IZOLACJI																					
		50 150	25 100	50 150	50 150	25 100	50 150	25 100	50 150	25 100	50 150	50 150	50 150	50 150	50 150	25 100	50 100	50 100	25 100	50 150	50 150		
DNA	GENOMOWE	BAKTERIE	●		●																	●	
		DROŻDŻE	●		●																		
		HODOWLE KOMÓRKOWE							●												●	●	
		ROŚLINY											●										
		GRZYBY											●										
		ROŚLINY BOGATE W POLISACHARYDY <sup>2</sup>											●										
		KREW													●								
		GLEBA															●						
		KĄŁ																●					
		WYMAZY																	●				
		TKANKI ZWIERZĘCE																				●	●
		TKANKI PARAFINA / FORMALINA																				●	●
		OGONY GRZYŹNI																				●	●
		WŁOSY																				●	●
		OWADY																				●	●
		MOCZ																				●	●
		KOŚCI								●													
	ŚLADY BIOLOGICZNE					●																	
	ŻYWNOŚĆ									●													
PLAZMIDOWE	BAKTERIE							●					●	●									
	DROŻDŻE				●																		
IZOLACJA Z AGAROZY				●			●																
OCZYSZCZANIE PO PCR I REAKCJACH ENZYMATYCZNYCH		●					●						●										

Wszystkie zestawy zawierają bufor WASH w formie gotowej do bezpośredniego użytku

1. Dodatkowo wymagany bufor Lyse CT (E0324)
2. Zestaw do tworzenia emulsji i oczyszczania DNA.

- **GeneMAGNET PCR / DNA Clean-Up Purification Kit** pozwala na szybkie oczyszczanie m. in. produktów PCR, fragmentów restrykcyjnych molekuł DNA po obróbce enzymatycznej oraz znakowaniu izotopowym lub chemicznym.

Zabarwiony bufor Orange DX szczególnie ułatwia jednoczesną pracę z wieloma próbkami. Zestaw pozwala na efektywne usuwanie z próbki DNA zanieczyszczeń takich jak: bromek etydyny, primery (poniżej 40 nt), krótkie odcinki dwuniciowego DNA (poniżej 20 pz), znaczniki radioaktywne i nieradioaktywne, detergenty, związki buforowe, sole, EDTA, inhibitory, barwniki, enzymy restrykcyjne, egzonukleazy i endonukleazy, RNA, Taq DNA polimerazę, Pfu DNA polimerazę, BSA, białka modyfikujące DNA i inne.

Zestaw jest zoptymalizowany w celu wiązania fragmentów DNA w szerokim zakresie wielkości (od 100 pz do ponad 15 kpz) oraz w celu usuwania sprawiających szczególne trudności inhibitorów restrykcji i ligacji DNA. DNA wiązane jest do kuleczek magnetycznych pokrytych krzemionką, natomiast niezwiązane zanieczyszczenia są efektywnie usuwane za pomocą trzech etapów płukania. Elucję oczyszczonego DNA wykonuje się buforem niskosolnym, np.: zawierającym Tris-HCl, TE lub wodą destylowaną. Oczyszczony preparat DNA nadaje się do bezpośredniego użytku. Nie wymaga dalszej precypitacji etanolem.

- Linia GeneMAGNET opiera się na użyciu pokrytych krzemionką paramagnetycznych kuleczek (Magnetic Beads) do oczyszczania DNA i RNA. W celu osiągnięcia wysokiej wydajności i czystości otrzymanych kwasów nukleinowych, opracowano wyspecjalizowane buforu wiążące i płuczające, projektowane pod kątem optymalnego wykorzystania właściwości nowych kuleczek magnetycznych.



EURx Ltd. 80-297 Gdansk Poland  
ul. Przyrodnikow 3, NIP 957-07-05-191  
KRS 0000202039, [www.eurx.com.pl](http://www.eurx.com.pl)  
orders: email: [orders@eurx.com.pl](mailto:orders@eurx.com.pl)  
tel. +48 58 524 06 97, fax +48 58 341 74 23

