

GeneMAGNET Food DNA Purification Kit

Zestaw do izolacji DNA z żywności pochodzenia roślinnego i zwierzęcego

● **kat. nr. E3427**

EURx Ltd. 80-297 Gdansk Poland
ul. Przyrodników 3, NIP 957-07-05-191
KRS 0000202039, www.eurx.com.pl
orders: email: 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.....	3
Środki ostrożności.....	6

Składniki zestawu	96 izolacji E3427-01	Warunki przechowywania
Res FE	90 ml	15-25°C
Lyse FE	7.2 ml	15-25°C
Proteinase K (20 mg/ml)	1.2 ml	-20°C
PR	48 ml	2-8°C
Sol FE	72 ml	2-8°C
Wash FEX	180 ml	15-25°C
Wash FEX2	90 ml	15-25°C
Elution	12 ml	15-25°C
Magnetic Beads	1000 µl	2-8°C
Protokół	1	

Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika

- Statyw magnetyczny EURx (E0361 na 16 probówek, E0362 na 24 probówki, E0363 na płytki 96-dołkowe). Statywy do zakupienia osobno.
- Alkohol etylowy [96-100% v/v], mikrowirówka, rękawiczki, jałowe tipsy, jałowe probówki 1.5-2 ml lub płytki 96-dołkowe o pojemności przynajmniej 2 ml. Sprzęt konieczny do rozdrobnienia i homogenizacji próbki. W zależności od wybranej metody: móżdziej i ciekły azot lub mechaniczny homogenizator. Blok grzewczy pozwalający na inkubację próbki w temperaturze do 65°C. Opcjonalnie, jeśli istotne jest otrzymanie preparatu DNA wolnego od RNA, należy posiadać RNazę A o stężeniu 10 mg/ml. Polecamy użycie RNazy A o numerze katalogowym E1350 (EURx).

Uwagi wstępne

UWAGA 1 • Przeznaczenie zestawu. Zestaw umożliwia izolację DNA ze świeżej i przetworzonej żywności pochodzenia roślinnego, zwierzęcego i mieszanego metodą manualną lub automatyczną.

UWAGA 2 • Maksymalna ilość użytego materiału. Na jedną izolację DNA można użyć maksymalnie 300 mg próbki materiału. W przypadku suchego, higroskopijnego materiału (np. mąka, płatki kukurydziane, rośliny suszone) należy zmniejszyć wielkość próbki poniżej 100 mg.

UWAGA 3 • Przechowywanie komponentów zestawu. Po rozpakowaniu, zestaw należy przechowywać w temperaturze pokojowej, za wyjątkiem kuleczek magnetycznych (Magnetic Beads) buforu Sol FE, PR oraz Proteinazy K. Magnetic Beads, bufor Sol FE i PR należy przechowywać w 2-8°C, natomiast Proteinazę K w -20°C.

UWAGA 4 • Dobra praktyka laboratoryjna. Wszelkie roztwory z zestawu do oczyszczania DNA 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 kolumnki z użyciem Tris-HCl, wody lub TE.

Protokół

1. Homogenizacja materiału.

a. Zhomogenizować fragment materiału w ciekłym azocie, używając do tego celu wcześniej schłodzonego moździerza i tłuczka. Umieścić maksymalnie 300 mg próbki w probówce 2 ml typu Eppendorf. Dodać 750 µl buforu **Res FE**. Dokładnie zawiesić próbkę materiału.


lub

b. Rozdrobnić fragment materiału (maksymalnie 300 mg) mechanicznie przy użyciu homogenizatora w 750 µl buforu **Res FE**.

o *Procedura homogenizacji zależy od typu materiału. W niektórych przypadkach homogenizacja nie jest potrzebna i wystarcza dokładne zawieszenie próbki w buforze do lizy (np. mąka, paszety, koncentraty, sosy, ketchup).*

o *Zestaw pozwala na oczyszczenie DNA z maksymalnie 300 mg próbki. W przypadku suchego, higroskopijnego materiału (np. mąka, płatki kukurydziane, rośliny suszone) należy zmniejszyć wielkość próbki poniżej 100 mg, aby umożliwić kompletne zawieszenie próbki w buforze do lizy.*

- W przypadku próbek płynnych (olej spożywczy, sos sojowy, mleko sojowe, itp.) umieścić 300 µl próbki w probówce 2 ml typu Eppendorf.
 - Jeśli istotne jest otrzymanie preparatu DNA niezawierającego RNA, dodać 10 µl RNazy A o stężeniu 10 mg/ml.
2. Dodać 60 µl buforu **Lyse FE** i 10 µl **Proteinase K**.
 3. Wymieszać przez kilkukrotne odwrócenie probówki i inkubować 30 min w 65°C (podczas inkubacji wymieszać dwukrotnie przez odwracanie).
 4. Wirować przez 5 min z maksymalną prędkością.
 5. Przenieść 400 µl supernatantu do nowej probówki.
 - W pewnych przypadkach materiał silnie chłonie bufor, co powoduje, że niemożliwe jest wybranie z dna osadu 400 µl supernatantu. Należy wówczas zmniejszyć wielkość początkową próbki lub przenieść jak najwięcej supernatantu i dopełnić buforem Res FE do całkowitej objętości 400 µl.
 6. Dodać 400 µl buforu **PR**. Worteksować przez 5 sekund i inkubować przez 5 min. w lodzie (0-4°C).
 - Bufor PR umożliwia precipitację organicznych i nieorganicznych substancji, m.in.: białek, pozostałości komórkowych, inhibitorów enzymatycznych.
 7. Wirować przez 1 min z maksymalną prędkością.
 8. Przenieść 600 µl supernatantu do nowej probówki typu Eppendorf 2 ml lub dołka płytki 96-dołkowej o pojemności co najmniej 2 ml. Protokół kontynuować metodą manualną lub automatyczną.
 9. Do próbki/dołka płytki 96 dołkowej dodać 600 µl buforu **Sol FE**.
 10. Dodać 600 µl 96% etanolu i dokładnie wymieszać.
 11. Bardzo dokładnie zworteksować probówkę z kuleczkami magnetycznymi (**Magnetic Beads**), a następnie dodać 10 µl kuleczek magnetycznych do mieszaniny z roztworem DNA i wymieszać próbkę przez pipetowanie lub worteksowanie przez 1 min.
 - 10 µl kuleczek magnetycznych można dodać do 600 µl 96% etanolu (krok 10), wymieszać i dodać razem 610 µl roztworu do próbki.
 12. Umieścić probówkę/płytkę na statywie magnetycznym i odczekać do momentu całkowitego przyklejenia kuleczek magnetycznych do magnesu.
 13. Trzymając probówkę/płytkę na statywie magnetycznym usunąć roztwór nie naruszając kuleczek magnetycznych. Przełożyć probówkę/płytkę na zwykły statyw (usunąć magnes), dodać **800 µl buforu płuczającego Wash FEX** i pipetować lub worteksować zawieszając kuleczki w roztworze.

- 
14. Umieścić probówkę/płytkę na statywie magnetycznym i odczekać do momentu całkowitego przyklejenia kuleczek magnetycznych do magnesu.
 15. Trzymając probówkę/płytkę na statywie magnetycznym usunąć roztwór nie naruszając kuleczek magnetycznych. Przełożyć probówkę/płytkę na zwykły statyw (usunąć magnes), dodać **800 µl buforu płuczącego Wash FEX** i worteksować przez 10 s.
 16. Umieścić probówkę/płytkę na statywie magnetycznym i odczekać do momentu całkowitego przyklejenia kuleczek magnetycznych do magnesu.
 17. Trzymając probówkę/płytkę na statywie magnetycznym usunąć dokładnie cały roztwór nie naruszając kuleczek magnetycznych.
 18. Przełożyć probówkę/płytkę na zwykły statyw (usunąć magnes), dodać **800 µl buforu płuczącego Wash FEX2** i worteksować przez 10 s.
 19. Umieścić probówkę/płytkę na statywie magnetycznym i odczekać do momentu całkowitego przyklejenia kuleczek magnetycznych do magnesu.
 20. Trzymając probówkę/płytkę na statywie magnetycznym usunąć dokładnie cały roztwór nie naruszając kuleczek magnetycznych. Zostawić otwartą probówkę/płytkę na statywie magnetycznym przez 15-20 min w celu odparowania resztek alkoholu.
 - W buforze Wash FEX2 znajduje się alkohol, należy upewnić się, że próbka jest sucha zanim przejdzie się do pkt 21.
 21. Dodać do probówki/dołki płytki 96 dołkowej 100 µl **Elution**, wymieszać dobrze przez pipetowanie lub worteksowanie i inkubować 2 min.
 22. Umieścić próbkę na statywie magnetycznym. Po separacji kuleczek od roztworu, przenieść roztwór RNA/DNA do nowej probówki. RNA/DNA jest gotowe do dalszych analiz/manipulacji, może być przechowywane w 2-8°C lub zamrożone w -20°C.

Środki ostrożności

Lyse FE



Niebezpieczeństwo

H318 Powoduje poważne uszkodzenie oczu.

H412 Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

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

P273 Unikać uwolnienia do środowiska.

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.

P310 Natychmiast skontaktować się z lekarzem.

Proteinase K



Niebezpieczeństwo

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

P261 Unikać wdychania par/ rozpylonej cieczy.

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

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

Sol FE



Uwaga

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

H315 Działa drażniąco na skórę.

H319 Działa drażniąco na oczy.

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.

EUH032 W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.

Wash FEX / Wash FEX2



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.

- **GeneMAGNET Food DNA Purification Kit jest przeznaczony do manualnej lub automatycznej izolacji DNA ze świeżej i przetworzonej żywności pochodzenia roślinnego, zwierzęcego i mieszanego, co umożliwia m.in.: identyfikację żywności zawierającej DNA z genetycznie modyfikowanych organizmów (GMO). Oczyszczone DNA nie zawiera zanieczyszczeń m.in. takich jak: białka, lipidy, barwniki, detergenty, organiczne inhibitory enzymów, związki buforowe, sole, kationy dwuwartościowe.**

W trakcie izolacji DNA próbka zostaje dokładnie rozdrobniona, a następnie pozostałości struktur tkankowych i komórkowych są solubilizowane poprzez lizę w specjalnym buforze, który zapewnia integralność i ilościowy odzysk DNA. Proteinaza K degradowuje białka komórkowe, w tym białka wiążące DNA i nukleazy. Dodanie wyspecjalizowanego roztworu umożliwia precypitację organicznych i nieorganicznych substancji, m.in.: białek, pozostałości komórkowych, inhibitorów enzymatycznych.

Następnie DNA zawarte w lizacie jest wiązane do kuleczek magnetycznych opłaszczonych krzemionką w obecności buforu zawierającego sole chaotropowe i etanolu. Zanieczyszczenia związane do złoża są skutecznie usuwane w trakcie trzech etapów płukania. Elucję oczyszczonego DNA wykonuje się buforem niskosolnym, np.: zawierającym Tris-HCl, TE lub wodą destylowaną. Oczyszczony preparat DNA jest gotowy 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 bufory wiążące i płuczące, 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
orders: email: orders@eurx.com.pl
tel. +48 58 524 06 97, fax +48 58 341 74 23

