

GeneMAGNET Plant DNA Purification Kit

Uniwersalny zestaw do izolacji całkowitego DNA
z roślin, glonów i grzybów

● **kat. nr. E3428**

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

Uwagi wstępne.....	3
Protokół.....	3
Lista organizmów, na których testowano zestaw	
GeneMagnet Plant DNA Purification Kit.....	5
Środki ostrożności.....	6

Składniki zestawu	96 izolacji E3428-01	Warunki przechowywania
Lyse Plant	63 ml	15-25°C
Wash P1	46 ml	15-25°C
Wash P2	70 ml	15-25°C
Wash P3	70 ml	15-25°C
Elution	30 ml	15-25°C
Magnetic Beads	1 ml	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. Mikrowirówka, rękawiczki, jałowe tipsy, jałowe probówki 1.5-2 ml. Sprzęt konieczny do rozdrobnienia i homogenizacji próbki. W zależności od wybranej metody: móździerz i ciekły azot, mechaniczny homogenizator lub Tissue Grinding Tool E0359-03, E0359-04.
- Izopropanol 100%

Uwagi wstępne

UWAGA 1 • Przeznaczenie zestawu. Zestaw umożliwia izolację DNA z różnych organów i tkanek roślin (liście, korzenie, nasiona, owoce) oraz z grzybów, glonów i porostów. W przypadku izolacji DNA z liści zaleca się używanie jak najmłodszych liści, co pozwoli na uzyskanie większej wydajności izolacji DNA, ze względu na mniejszą w nich zawartość polisacharydów i polifenoli.

UWAGA 2 • Maksymalna ilość użytego materiału. 50 mg mokrej masy roślinnej lub 10 mg suchej masy roślinnej (rośliny wysuszone, liofilizowane).

UWAGA 3 • Przechowywanie komponentów zestawu. Po rozpakowaniu, zestaw należy przechowywać w temperaturze pokojowej, za wyjątkiem kuleczek magnetycznych (Magnetic Beads), które należy przechowywać w 2-8°C.

UWAGA 4 • Dobra praktyka laboratoryjna. Wszelkie roztwory z zestawu do oczyszczania DNA należy przechowywać szczelnie zamknięte, aby uniknąć zmiany stężeń w wyniku parowania.

Protokół

1. Homogenizacja tkanki.

Zhomogenizować fragment tkanki w ciekłym azocie, używając do tego celu wcześniej schłodzonego moździerza i tłuczka. Odważyć maksymalnie 50 mg mokrej masy roślinnej lub 10 mg suchej masy roślinnej (rośliny wysuszone, liofilizowane) w probówce 2 ml typu Eppendorf. Zawiesić zhomogenizowaną tkankę roślinną w 600 µl buforu [Lyse Plant](#) i wytrząsać 3 min.

• Można do homogenizacji użyć Tissue Grinding Tool E0359-03, E0359-04. Włożyć fragment tkanki do próbówki ze złożem, dodać 600 µl Lyse Plant i dokładnie rozetrzeć patyczkiem do homogenizacji.

• Jeżeli izolat powinien być wolny od RNA to na etapie homogenizacji należy dodać 3 µl RNase A (E1350). Ten krok nie jest wymagany jeśli uzyskany izolat ma być użyty w metodach takich jak PCR lub real time PCR.

• Fragment tkanki należy zhomogenizować/rozbić jak najdrobniej, gdyż jest to etap decydujący o wydajności izolacji DNA.

2. Wirować przez 3 min z prędkością 14 000 x g.

3. Ostrożnie wybrać 400 µl supernatantu znad osadu i przenieść do nowej próbówki.

• W przypadku izolacji DNA z niektórych roślin utworzone precypitaty po wirowaniu słabo przylegają do dna próbówki. W związku z tym, zaleca się jednoczesne wybieranie supernatantu z maksymalnie kilku próbek oraz kontynuowanie wirowania pozostałości próbek.

• W przypadku, gdy niemożliwe jest wybranie znad osadu 400 µl supernatantu należy zmniejszyć masę początkową próbki. Ewentualnie należy wybrać mniejszą objętość supernatantu i kontynuować izolację zgodnie z protokołem (zachowując podane objętości buforów).

4. Dodać 400 µl izopropanolu (100 %).
 - *Izopropanol nie jest dołączony do zestawu.*
5. Dokładnie wymieszać przez pipetowanie (20 razy) lub worteksowanie (30 s).
6. Bardzo dokładnie zworteksować probówkę z kuleczkami magnetycznymi (**Magnetic Beads**), a następnie dodać 10 µl kuleczek magnetycznych do mieszaniny z roztworem DNA i wymieszać dokładnie próbkę przez worteksowanie lub pipetowanie. Inkubować 5 min w temperaturze pokojowej.
 - *Ewentualnie przełożyć próbkę do dołka płytki 96-dołkowej o objętości dołków 0.8-1.0 ml.*
 - *Uwaga, jeśli objętość mieszaniny jest większa niż objętość dołka płytki 96-dołkowej lub gdy siła magnesu jest zbyt mała, można do dołka nanieść część próbki, płytkę umieścić na magnesie, po separacji kuleczek magnetycznych odciągnąć supernatant i nanieść do dołka płytki resztę mieszaniny powtarzając procedurę separacji kuleczek magnetycznych.*
7. Umieścić probówkę/płytkę na statywie magnetycznym i odczekać do momentu całkowitego przyklejenia kuleczek magnetycznych do magnesu (3 min).
8. Trzymając probówkę/płytkę na statywie magnetycznym usunąć roztwór nie naruszając kuleczek magnetycznych. Przełożyć probówkę/płytkę na zwykły statyw (usunąć magnes), dodać 400 µl buforu płuczającego **Wash P1** do probówki/dołka płytki 96 dołkowej i worteksować lub pipetować przez 10 s.
9. Umieścić probówkę/płytkę na statywie magnetycznym i odczekać do momentu całkowitego przyklejenia kuleczek magnetycznych do magnesu.
10. Trzymając probówkę/płytkę na statywie magnetycznym usunąć roztwór nie naruszając kuleczek magnetycznych. Przełożyć probówkę na zwykły statyw (usunąć magnes), dodać 600 µl buforu płuczającego **Wash P2** do probówki/dołka płytki 96 dołkowej i worteksować lub pipetować przez 10 s.
11. Umieścić probówkę/płytkę na statywie magnetycznym i odczekać do momentu całkowitego przyklejenia kuleczek magnetycznych do magnesu.
12. Trzymając probówkę/płytkę na statywie magnetycznym usunąć dokładnie cały roztwór nie naruszając kuleczek magnetycznych.
13. Przełożyć probówkę na zwykły statyw (usunąć magnes), dodać 600 µl buforu płuczającego **Wash P3** do probówki/dołka płytki 96 dołkowej i worteksować lub pipetować przez 10 s.
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 dokładnie cały roztwór nie naruszając kuleczek magnetycznych. Zostawić otwartą probówkę/płytkę na statywie magnetycznym przez 15 min w celu odparowania resztek alkoholu.
 - *W buforze Wash P3 znajduje się alkohol, należy upewnić się, że próbka jest sucha zanim przejdzie się do następnego kroku.*

16. Dodać do próbówki 100-200 µl buforu **Elution**, worteksować lub pipetować próbkę w celu całkowitego zawieszenia kuleczek magnetycznych w roztworze i inkubować 5 min w temperaturze pokojowej.
17. Umieścić próbówkę/ płytkę na statywie magnetycznym. Po separacji kuleczek od roztworu, przenieść roztwór DNA do nowej próbówki. DNA jest gotowe do dalszych analiz/ manipulacji, może być przechowywane w 2-8°C lub zamrożone w -20°C.

Lista organizmów, na których testowano zestaw GeneMagnet Plant DNA Purification Kit

Rośliny:

Rzodkiewnik pospolity	<i>Arabidopsis thaliana</i>
Rzepak	<i>Brassica napus</i> L. var. <i>napus</i>
Cis pospolity	<i>Taxus baccata</i>
Ziemniak (bulwy)	<i>Solanum tuberosum</i>
Seler (nać)	<i>Apium graveolens</i>
Pietruszka (nać)	<i>Petroselinum crispum</i>
Koper ogrodowy (suszy)	<i>Anethum graveolens</i>
Len zwyczajny (siemie)	<i>Linum usitatissimum</i>
Kiwi (owoc ze skórka)	<i>Actinidia deliciosa</i>
Banan (owoc ze skórka)	<i>Musa paradisiaca</i>
Jabłko (owoc ze skórka)	<i>Malus domestica</i>
Ślonecznik (ziarno)	<i>Helianthus annuus</i>
Orzech włoski	<i>Juglans regia</i>
Pomidor (owoc)	<i>Lyopersicon esculentum</i>

Grzyby i porosty:

Borowik szlachetny (suszony)	<i>Boletus edulis</i>
Grzyby Mun (Uszak bzowy, suszony)	<i>Auricularia auricula-judae</i>
pleśń	<i>Penicillium candidum</i>
kropidlak	<i>Aspergillus sp.</i>
porost nadrzewny Liszajec szary	<i>Lepraria incana</i>

Środki ostrożności

Lyse Plant



Uwaga

H319 Działa drażniąco na oczy.

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.

Wash P1



Uwaga

H226 Łatwopalna ciecz i para.

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 P2 / Wash P3



Niebezpieczeństwo

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i para.

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 Plant DNA Purification Kit jest przeznaczony do łatwej i szybkiej izolacji całkowitego komórkowego DNA (genomowego, mitochondrialnego i chloroplastowego) z różnorodnych tkanek roślin oraz z grzybów, glonów i porostów.**

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 materiał roślinny jest dokładnie rozdrabniany, a następnie poddany lizie w buforze dodatkowo wspomagającym usuwanie zanieczyszczeń z próbki. Po usunięciu cząsteczek stałych i dodaniu izopropanolu, DNA zawarte w roztworze wiąże się do kuleczek magnetycznych opłaszczonych krzemionką.

Pozostałości zanieczyszczeń są skutecznie usuwane w trakcie trzech etapów płukania. Elucję oczyszczonego DNA wykonuje się buforem niskosolnym. 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 bufony 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

