

GeneMATRIX Short DNA Clean-Up Purification Kit

Zestaw do oczyszczania krótkich fragmentów jednoniciowego i dwuniciowego DNA po obróbce enzymatycznej.

● **kat. nr. E3515**

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

Składniki zestawu	25 izolacji E3515-01	100 izolacji E3515-02	Warunki przechowywania
Buffer SF	0.9 ml	3.6 ml	15-25°C
SFB	21 ml	84 ml	15-25°C
Wash SFX	29 ml	114 ml	15-25°C
Elution	3 ml	12 ml	15-25°C
DNA Binding Columns	25 szt.	2 x 50 szt.	15-25°C
Protokół	1	1	

Uwagi wstępne

UWAGA 1 • Przeznaczenie zestawu. Zestaw Short DNA Clean-Up przeznaczony jest do oczyszczania oligonukleotydów oraz dwuniciowego DNA od 10 do 10 000 par zasad po reakcjach enzymatycznych. Usunięte zostają niewcielone nukleotydy, enzymy, sole i inne zanieczyszczenia. Procedura nie usuwa primer-dimers i nie wykorzystanych w reakcji PCR primerów.

UWAGA 2 • Maksymalna ilość użytego materiału. Ogólna pojemność minikolumny to 25 µg DNA. Maksymalna objętość płynu nanoszonego na minikolumnę to 700 µl.

UWAGA 3 • Przechowywanie składników zestawu. Po rozpakowaniu, zestaw należy przechowywać w temperaturze pokojowej, 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 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 wymyć z kolumnienki z użyciem Tris-HCl, wody lub TE.

Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika

- Mikrowirówka, rękawiczki, jałowe tipsy, jałowe probówki 1.5-2 ml.
- Etanol 96-100% lub izopropanol.

Protokół

1. Dodać 30 µl buforu aktywacyjnego **Buffer SF** do minikolumny (nie wirować). Pozostawić w temperaturze pokojowej do momentu naniesienia mieszaniny (punkt 3) na minikolumnę.
 - o Dodanie buforu aktywacyjnego Buffer SF centralnie na powierzchnię membran zapewnia kompletne nasączenie membran buforem aktywacyjnym i uzyskanie maksymalnej wydajności wiązania DNA.
 - o Aktywację należy wykonać przed rozpoczęciem procedury izolacji DNA.
2. Dodać 5 objętości buforu **SFB** do 1 objętości roztworu DNA i wymieszać.
 - o Np. do 40 µl roztworu DNA dodać 200 µl buforu SFB..
 - o Minimalna objętość roztworu DNA to 40 µl. W przypadku mniejszych objętości dopełnić ddH₂O do 40 µl. Maksymalna objętość roztworu DNA to 140 µl. Należy wówczas dodać 0.7 ml buforu.
3. Do mieszaniny dodać 1.2 objętości etanolu (96-100%) lub 1.0 objętości izopropanolu.
 - o Np. jeżeli w pkt. 2 otrzymano 240 µl mieszaniny dodać: 288 µl etanolu lub 240 µl izopropanolu.
4. Przenieść maksymalnie 700 µl mieszaniny do minikolumny, znajdującej się w probówce odbierającej. Wirować w mikrowirówce przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
 - o Jeżeli objętość mieszaniny przekracza 700 µl, przenieść pozostałość do tej samej minikolumny wiążącej. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
5. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
6. Dodać 600 µl buforu płuczącego **Wash SFX** do minikolumny i wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
7. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
8. Dodać 350 µl buforu płuczącego **Wash SFX** do minikolumny. Wirować przez 2 min z prędkością 11 000 x g.
 - o Podczas wyjmowania minikolumny zwrócić szczególną uwagę aby nie zanieczyścić próbki buforem płuczącym. Jeżeli membrana nie jest całkowicie sucha, wylać przesącz, umieścić minikolumnę w probówce i ponownie wirować przez 1 min.
9. Minikolumnę umieścić w nowej probówce typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 50-100 µl buforu **Elution**.
 - o Możliwe jest zmniejszenie objętości elucyjnej poniżej 50 µl (graniczna objętość 20 µl), powoduje to jednak stopniowe obniżenie wydajności odzysku DNA.

10. Minikolumnę pozostawić na 2 min w temperaturze pokojowej.
11. Wirować minikolumnę przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
12. Usunąć minikolumnę, zamknąć probówkę. DNA jest gotowe do dalszych analiz/manipulacji, może być przechowywane w 2-8°C lub zamrożone w -20°C.

Środki ostrożności

Buffer SF



Niebezpieczeństwo

H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.

H318 Powoduje poważne uszkodzenie oczu.

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

P260 Nie wdychać par/rozpylonej cieczy.

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.

SFB



Niebezpieczeństwo

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.

P284 W przypadku nieodpowiedniej wentylacji stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych.

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 SFX



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	E3605	E3640	E3680	E3810	E3845	E3860	E3855	E3825	E3820	E3895	E3835	E3800	E3865	E3815	E3870	E3875	E3830	E3850	E3851	
		MICELLULLA DNA ¹	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 CLEAN-UP	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	25 100	50 100	50 100	25 100	50 150	50 150	50 150	
DNA	GENOMOWE	BAKTERIE	●	●																	●	
		DROŻDŻE	●	●																		
		HODOWLE KOMÓRKOWE							●												●	●
		ROŚLINY										●										
		GRZYBY										●										
		ROŚLINY BOGATE W POLISACHARYDY ¹										●										
		KREW													●							
		GLEBA															●					
		KĄŁ																●				
		WYMAZY																		●		
		TKANKI ZWIERZĘCE																			●	●
		TKANKI PARAFINA / FORMALINA																			●	●
		OGONY GRZYŻONI																			●	●
		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.

○ **GeneMATRIX Short DNA Clean-Up Purification Kit pozwala na szybkie oczyszczenie m. in. produktów PCR, fragmentów restrykcyjnych, molekuł DNA po obróbce enzymatycznej oraz znakowaniu izotopowym lub chemicznym.**

Zestaw pozwala na efektywnie usuwanie z próbek DNA zanieczyszczeń takich jak: nukleotydy, bromek etydyny, znaczniki radioaktywne i nieradioaktywne, detergenty, związki buforowe, sole, EDTA, inhibitory, barwniki, enzymy restrykcyjne, egzonukleazy i endonukleazy, polimerazy, BSA, białka modyfikujące DNA i inne. Zestaw jest zoptymalizowany w celu wiązania krótkich, jednoniciowych fragmentów DNA (oligonukleotydy) oraz dwuniciowego DNA od 10 do 10 000 par zasad. Podczas krótkiego wirowania

następuje wiązanie DNA do membran, natomiast niezwiązane zanieczyszczenia pozostają w wycieku z kolumny. Ich śladowe pozostałości na membranie są skutecznie usuwane w trakcie dwóch 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 precipitacji etanolem.

○ **GeneMATRIX to syntetyczne membrany nowej generacji wiążące DNA i RNA, wykorzystujące selektywne właściwości wiązania kwasów nukleinowych przez kompozytowy SiO₂. W celu osiągnięcia wysokiej wydajności i czystości otrzymanych kwasów nukleinowych, opracowano wyspecjalizowane bufony wiążące i płuczące, projektowane pod kątem optymalnego wykorzystania właściwości nowych membran.**

Zastosowanie gotowych do użycia membran, umieszczonych w kolumnkach wirowniczych (ang. Spin-format) w połączeniu ze specjalną konstrukcją naszych minikolumn, istotnie poprawia jakość uzyskanego preparatu DNA lub RNA. Celem monitorowania kompletnego wymieszania roztworów oraz ułatwienia procedury izolacji DNA, część roztworów wyznakowano barwnikami.

W efekcie przekazujemy w Państwa ręce zestawy składające się z nowych złóż i buforów reakcyjnych, których użycie gwarantuje szybkie, proste, bezpieczne i jednocześnie wydajne otrzymanie ultraczystych kwasów nukleinowych. Uzyskane DNA lub RNA

nadaje się bezpośrednio do zastosowań w technikach biologii molekularnej, m.in.: trawienia enzymami restrykcyjnymi, defosforylacji/fosforylacji, ligacji, badań oddziaływania białko-DNA, sekwencjonowania, blottingu, translacji in vitro, otrzymywania cDNA, hybrydyzacji. Dodatkową zaletą zestawów jest powtarzalność właściwości zarówno membran jak i buforów wiążących, ponieważ przygotowanie komponentów odbywa się w EURx sp. z o.o.



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

