

## GeneMATRIX PCR / DNA Clean-Up Purification Kit

Zestaw do oczyszczania produktów PCR / DNA po obróbce enzymatycznej

● kat. nr. E3520

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

<b>Uwagi wstępne.....</b>	<b>3</b>
<b>Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika .....</b>	<b>3</b>
<b>Protokół.....</b>	<b>4</b>
<b>Środki ostrożności.....</b>	<b>6</b>

<b>Składniki zestawu</b>	<b>50 izolacji E3520-01</b>	<b>150 izolacji E3520-02</b>	<b>Warunki przechowywania</b>
Buffer DX	1.8 ml	5.4 ml	15-25°C
Orange DX	24 ml	72 ml	15-25°C
Wash DX1	30 ml	90 ml	15-25°C
Wash DX2	39 ml	117 ml	15-25°C
Elution	9 ml	27 ml	15-25°C
DNA Binding Columns	50 szt.	3 x 50 szt.	15-25°C
Protokół	1	1	

## Uwagi wstępne

**UWAGA 1 • Przeznaczenie zestawu.** Zestaw pozwala na szybkie oczyszczenie produktów PCR, fragmentów restrykcyjnych, 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 naszego zestawu Agarose-Out DNA Purification Kit.

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

**UWAGA 3 • Przechowywanie składników zestawu.** Po rozpakowaniu, zestaw do oczyszczania DNA 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 należy przechowywać szczelnie zamknięte, aby uniknąć zmiany stężeń w wyniku parowania.

### Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika

- Mikrowirówka, rękawiczki, jałowe tipsy, jałowe probówki 1.5-2 ml, pipety.

# Protokół

1. Dodać 30 µl buforu aktywacyjnego **Buffer DX** do minikolumny (nie wirować). Pozostawić w temperaturze pokojowej do momentu naniesienia mieszaniny (punkt 3) na minikolumnę.
  - o Dodanie buforu aktywacyjnego **Buffer DX** centralnie na powierzchnię membran zapewnia kompletne nasączenie membran buforem aktywacyjnym i uzyskanie maksymalnej wydajności wiązania DNA.
  - o Aktywację należy wykonać przed rozpoczęciem procedury oczyszczania DNA.
2. Dodać 2 objętości buforu **Orange DX** do 1 objętości roztworu DNA i wymieszać.
  - o Na przykład, dodać 200 µl buforu **Orange DX** do 100 µl roztworu DNA.
  - o Maksymalna objętość roztworu DNA nie powinna przekraczać 200 µl. Minimalna objętość roztworu DNA to 40 µl. Jeżeli objętość próbki jest mniejsza niż 40 µl, uzupełnić do 40 µl za pomocą jałowej wody destylowanej.
3. Przenieść uzyskaną mieszaninę do **kolumnienki wiążącej**, znajdującej się w próbówce odbierającej.
4. Wirować w mikrowirówce przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
5. Wyjąć minikolumnę, wyłączyć przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w próbówce odbierającej.
6. Dodać 500 µl buforu płuczącego **Wash DX1** do minikolumny i wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
7. Wyjąć minikolumnę, wyłączyć przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w próbówce odbierającej.
8. Dodać 650 µl buforu płuczącego **Wash DX2** do minikolumny i wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
9. Wyjąć minikolumnę, wyłączyć przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w próbówce odbierającej.
10. Wirować przez 2 min z prędkością 11 000 x g w celu usunięcia resztek buforu płuczącego.
11. Minikolumnę umieścić w nowej próbówce typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 50-150 µl buforu **Elution**.
  - o Dodanie buforu eluującego centralnie na powierzchnię membrany zapewnia uzyskanie maksymalnej wydajności odzysku DNA. Należy unikać dotykania ścianek minikolumn mikropipetą, aby nie przenosić śladów DNA pomiędzy kolejnymi minikolumnami.

o Do elucji większych fragmentów DNA (powyżej 5 kbp) zwiększoną wydajność uzyska się stosując bufor elucyjny podgrzany do 80°C.

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 µl (graniczna objętość 20 µl), powoduje to jednak stopniowe obniżenie wydajności odzysku DNA.

**12.** Minikolumnę pozostawić na 2 min w temperaturze pokojowej.

**13.** Wirować minikolumnę przez 1 min z prędkością 11 000 x g.

**14.** 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 DX



### 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.

## 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.

○ **GeneMATRIX PCR / 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.**

Zabarwiony bufor szczególnie ułatwia jednoczesną pracę z wieloma próbkami. Zestaw pozwala na efektywnie usuwane 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 GeneMatrix 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. 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 SiO<sub>2</sub>. W celu osiągnięcia wysokiej wydajności i czystości otrzymanych kwasów nukleinowych, opracowano wyspecjalizowane bufor 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 mikokolumn, 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, hybrydizacji. 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](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

