EURx® MOLECULAR BIOLOGY PRODUCTS

Wersja zestawu 4.4
Maj 2024

GeneMATRIX Swab-Extract DNA Purification Kit

Zestaw do izolacji DNA z wymazów

kat. nr. E3530

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

Spis treści

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

Składniki zestawu	25 izolacji E3530-01	100 izolacji E3530-02	Warunki przechowywania
Buffer S	0.9 ml	3.6 ml	15-25°C
Lyse S	12 ml	48 ml	15-25°C
Proteinase K (20 mg/ml)	0.3 ml	1.2 ml	–20°C
Sol S	12 ml	48 ml	2-8°C
Wash SX1	15 ml	60 ml	15-25°C
Wash SX2	15 ml	60 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	

Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika

- 1M DTT (Dithiothreitol), alkohol etylowy [96-100% v/v], mikrowirówka, rękawiczki, jałowe tipsy, jałowe probówki 1.5-2 ml. Blok grzejny pozwalający na inkubację próbki w temperaturze do 70°C.

Uwagi wstępne

UWAGA 1 · Przeznaczenie zestawu. Zestaw Swab-Extract umożliwia izolację całkowitego DNA (genomowego, mitochondrialnego, bakteryjnego) z wymazów z błon śluzowych, nasienia, śliny, krwi.

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, za wyjątkiem buforu Sol S i Proteinazy K. Bufor Sol S 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 wymyć z kolumienki z użyciem Tris-HCl, wody lub TE.

Protokół

1. Dodać 30 µl buforu aktywacyjnego **Buffer S** do minikolumny (nie wirować). Pozostawić w temperaturze pokojowej do momentu naniesienia lizatu na minikolumnę.

   - *Dodanie buforu aktywacyjnego Buffer S centralnie na powierzchnię membran zapewnia kompletne nasączenie membran buforem aktywacyjnym i uzyskanie maksymalnej wydajności wiązania DNA.*

   - *Aktywację należy wykonać przed rozpoczęciem procedury izolacji DNA.*
2. Wykonać wymaz z błon śluzowych, nasienia, śliny, krwi.
3. Odciąć nożyczkami końcówkę pałeczki wymazowej zawierającej próbkę i umieścić w probówce typu Eppendorf 2ml.
4. Dodać 400 µl buforu **Lyse S** i 10 µl **Proteinase K**. W przypadku wymazu nasienia dodać dodatkowo 20 µl 1 M DTT.
5. Wymieszać przez parokrotne odwrócenie probówki lub worteksowanie. Inkubować 30 min w 56°C, mieszając przez odwracanie co ok. 10 minut.
6. Dodać 400 µl buforu **Sol S** i dokładnie wymieszać przez kilkukrotne odwrócenie probówki.
7. Inkubować 10 min w 70°C.
8. Dodać 200 µl 96-100% etanolu.
9. Dokładnie wymieszać przez kilkukrotne odwrócenie probówki.

10. Wirować przez 2 min z prędkością 11 000 x g.
11. Przenieść 600 µl lizatu do minikolumny, znajdującej sie w probówce odbierającej.
12. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.

    - *W przypadku niecałkowitego przefiltrowania lizatu przez złoże wirowanie należy kontynuować.*

13. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
14. Przenieść pozostałość lizatu do minikolumny, znajdującej się w probówce odbierającej.
15. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.

    - *W przypadku niecałkowitego przefiltrowania lizatu przez złoże wirowanie należy kontynuować.*

16. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
17. Dodać 500 µl buforu płuczącego **Wash SX1** do minikolumny i wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
18. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
19. Dodać 500 µl buforu płuczącego **Wash SX2** do minikolumny i wirować przez 2 min z prędkością 11 000 x g.

    - *Podczas wyjmowania minikolumny zwrócić szczególną uwagę aby nie zanieczyścić próbki buforem płuczącym. Jeżeli minikolumna nie jest całkowicie sucha, wylać przesącz, umieścić ją w probówce i ponownie wirować przez 1 min.*

20. Minikolumnę umieścić w nowej probówce typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 50-100 µl buforu **Elution**.

    - *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.*

    - *W celu podniesienia wydajności odpłukania z membran DNA genomowego można bufor Elution ogrzać do temp. 80°C.*

    - *Do elucji DNA można używać:*
      - *Buforu 5-10 mM Tris-HCl, pH 8.0-9.0*
      - *Buforu TE, pH 8.0-9.0 (nie zalecany w przypadku sekwencjonownia DNA)*
      - *Innych buforów do celów specjalnych, o pH i stężeniu soli zbliżonych do buforu 5-10 mM Tris-HCl, pH 8.0-9.0.*

21. Minikolumnę pozostawić na 2 min w temperaturze pokojowej.
22. Wirować minikolumnę przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
23. 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 S

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.

Lyse S

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.

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 zatruć/ lekarzem.

Sol S

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 zatruć/ 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 SX1

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 zatruć/ 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 SX2

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 Swab-Extract DNA Purification Kit jest przeznaczony do szybkiej izolacji całkowitego komórkowego DNA (genomowego, mitochondrialnego i bakteryjnego) z wymazów pobranych m.in. z błon śluzowych, nasienia, śliny, krwi. 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 poddana zostaje lizie w obecności buforów stymulujących dezintegrację struktur tkanek i komórek oraz uwalnianie DNA, zarówno w próbkach świeżo pobranych jak i wysuszonych. Solubilizacja próbki wspomagana jest proteolizą. Proteinaza K całkowicie degraduje białka komórkowe, w tym białka wiążące DNA i nukleazy. Dodanie specjalnego buforu oraz etanolu wytwarza warunki do selektywnego wiązania DNA do złoża GeneMATRIX. Podczas krótkiego wirowania następuje wiązanie DNA do złoża, natomiast niezwiązane zanieczyszczenia pozostają w wycieku z kolumny. Ich śladowe pozostałości na złożu 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 precypitacji etanolem.

- **GeneMATRIX to syntetyczne membrany nowej generacji wiążące DNA i RNA, wykorzystujące selektywne właściwości wiązania kwasów nukleinowych przez kompozytowy SiO_2. W celu osiągnięcia wysokiej wydajności i czystości otrzymanych kwasów nukleinowych, opracowano wyspecjalizowane bufory wiążące i płuczące, projektowane pod kątem optymalnego wykorzystania właściwości nowych membran.**

Zastosowanie gotowych do użycia membran, umieszczonych w kolumienkach 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®
MOLECULAR
BIOLOGY
PRODUCTS

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