

GeneMATRIX Basic DNA Purification Kit

3 in 1: For Agarose, Plasmid and PCR/DNA Clean-Up

Uniwersalny zestaw do oczyszczania produktów PCR / DNA po obróbce enzymatycznej, izolacji DNA z żeli agarozowych oraz izolacji wysokiej czystości plazmidowego DNA z bakterii.

● **kat. nr. E3545**

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 I.....	4
Oczyszczanie PCR/DNA	4
Protokół II.....	5
Izolacja z Agarozy.....	5
Protokół III	7
Izolacja DNA Plazmidowego.....	7
Środki ostrożności.....	9

Składniki zestawu	50 izolacji E3545-01	150 izolacji E3545-02	Warunki przechowywania
Buffer Uni	1.8 ml	5.4 ml	15-25°C
Basic	60 ml	180 ml	15-25°C
Cell R *	15 ml	45 ml	2-8°C
Lysis Blue	15 ml	45 ml	15-25°C
Neutral B	21 ml	63 ml	15-25°C
Wash UX1	30 ml	90 ml	15-25°C
Wash UX2	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	

* Bufor CellR zawiera RNazę A (100 µg/ml).

Uwagi wstępne

UWAGA 1 • Przeznaczenie zestawu.

Protokół **Oczyszczanie PCR / DNA** 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 jednociowych 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 użycie protokołu **Izolacja z Agarozy**.

Protokół **Izolacja z Agarozy** jest przeznaczony do izolacji fragmentów DNA o wielkości od ok. 100 pz do 10 kpz, zarówno z żeli buforowanych TAE jak i TBE. Możliwa jest izolacja większych fragmentów DNA (10 kpz do ponad 20 kpz). W tym zakresie obserwuje się jednak stopniowe obniżenie wydajności izolacji.

Protokół **Izolacja DNA Plazmidowego** pozwala na izolację wysokiej czystości plazmidowego DNA z bakterii gram ujemnych. Najwyższej jakości DNA uzyskuje się z hodowli bakteryjnych znajdujących się w fazie logarytmicznej wzrostu lub wczesnej fazie stacjonarnej. Ze względu na różnice w tempie wzrostu i wielkości komórek różnych rodzajów bakterii, należy empirycznie ustalić optymalną objętość zwirowanej hodowli. Ogólnie masa osadu po zwirowaniu nie powinna przekraczać 50 mg a objętość hodowli przypadająca na jeden prep nie powinna przekraczać 3.0 ml.

UWAGA 2 • Maksymalna ilość użytego materiału. Maksymalna pojemność minikolumny to 25 µg DNA.

UWAGA 3 • Przechowywanie składników zestawu. Po rozpakowaniu, zestaw do oczyszczania DNA należy przechowywać w temperaturze pokojowej, za wyjątkiem buforu Cell R (zawierającego RNazę A), który należy przechowywać w temperaturze 2-8°C. 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. Bufor Basic po kontakcie z kwasami może uwalniać toksyczne gazy. Używać wyłącznie zgodnie z przeznaczeniem; nie dodawać kwasów do pojemników zawierających pozostałości po użyciu zestawu.

Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika

- Do wszystkich protokołów: mikrowirówka, rękawiczki, jałowe tipsy, jałowe próbówki 1.5-2 ml, pipety.
- Do protokołu Izolacja z Agarozy – sprzęt konieczny do wizualizacji i wycięcia prążka DNA. Najczęściej: lampa UV i skalpel. Blok grzejny pozwalający na inkubację próbek w temperaturze 55°C.

Protokół I

Oczyszczanie PCR/DNA

Protokół pozwala na szybkie oczyszczenie m. in. produktów PCR, fragmentów restrykcyjnych, molekuł DNA po obróbce enzymatycznej oraz znakowaniu izotopowym lub chemicznym.

1. Dodać 30 µl buforu aktywacyjnego **Buffer Uni** do minikolumny (nie wirować). Pozostawić w temperaturze pokojowej do momentu naniesienia mieszaniny (punkt 3) na minikolumnę.
 - o *Dodanie buforu aktywacyjnego Buffer Uni 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 **Basic** do 1 objętości roztworu DNA i wymieszać.
 - o *Na przykład, dodać 200 µl buforu Basic 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 **kolumniki wiążącej**, znajdującej się w probówce odbierającej.
4. Wirować w mikrowirówce przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
5. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
6. Dodać 500 µl buforu płuczącego **Wash UX1** 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 650 µl buforu płuczącego **Wash UX2** do minikolumny i wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
9. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
10. Wirować przez 2 min z prędkością 11 000 x g w celu usunięcia resztek buforu płuczącego.
11. Minikolumnę umieścić w nowej probówce 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.

Protokół II

Izolacja z Agarozy

Protokół pozwala na szybkie oczyszczenie liniowych lub kolistych cząsteczek DNA o wielkości od ok. 100 pb do ponad 10 kbp, rozdzielanych na TAE- lub TBE-żelu agarozowym.

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

o Dodanie buforu aktywacyjnego Buffer Uni 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. Wyciąć prążek DNA z żelu, tak aby jego waga nie przekroczyła 250 mg, a następnie umieścić wycięty fragment żelu w probówce typu Eppendorf.

o Istotne jest, aby bufor do elektroforezy nie był wielokrotnie używany, ze względu na zachodzące zmiany pH, które obniżają wydajność odzysku DNA.

o Prążek należy wycinać w taki sposób, aby uniknąć nadmiaru otaczającej DNA agarozy.

o W przypadku, gdy waga fragmentu żelu przekracza 250 mg, należy zawiesić go w odpowiedniej objętości buforu Basic i nanieść w porcjach na minikolumnę.

3. Dodać 2.5 objętości buforu **Basic** do 1 objętości wyciętego żelu (100 mg ~ 100 µl).



Wymieszać kilkakrotnie poprzez odwracanie probówek.

- *Na przykład, do 100 mg wyciętej agarozy dodać 250 µl buforu Basic.*
- 4. Inkubować w bloku grzejnym lub łaźni wodnej w temp. 55°C, mieszając przez 2-krotne odwracanie co 1-2 min, aż do całkowitego rozpuszczenia agarozy.
 - *Proces rozpuszczania trwa od 5 do 10 min, zależnie od stężenia agarozy, użytego buforu oraz ilości wyciętego żelu.*
- 5. Przenieść maksymalnie 700 µl mieszaniny do **kolumnki wiążącej** umieszczonej w probówce odbierającej. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
- 6. Przenieść pozostałość mieszaniny do tej samej **kolumnki wiążącej**. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
- 7. Dodać 500 µl buforu **Basic** do minikolumny i wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
- 8. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
- 9. Dodać 650 µl buforu płuczącego **Wash UX2** i wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
- 10. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
- 11. Wirować przez 2 min z prędkością 11 000 x g w celu usunięcia resztek buforu płuczącego.
- 12. Minikolumnę umieścić w nowej probówce typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 50-80 µl buforu **Elution**.
 - *Dodanie buforu elującego centralnie na powierzchnię membrany zapewnia uzyskanie maksymalnej wydajności odzysku DNA. Należy unikać dotykania ścianek minikolumn mikropipetą, aby nie przenosić śladów DNA pomiędzy kolejnymi minikolumnami.*
 - *Do elucji większych fragmentów DNA (powyżej 5 kbp) zwiększoną wydajność uzyska się stosując bufor elacyjny podgrzany do 80°C.*
 - *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.*
 - *Możliwe jest zmniejszenie objętości elucyjnej poniżej 50 µl (graniczna objętość 20 µl), powoduje to jednak stopniowe obniżenie wydajności odzysku DNA.*
 - *Optymalne wyniki automatycznego sekwencjonowania DNA, oczyszczanego według powyższego protokołu, uzyskuje się używając co najmniej 0.3-0.6 pmola DNA (przykładowo 200-400 ng fragmentu DNA o długości 1 kbp).*

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

Protokół III

Izolacja DNA Plazmidowego

Protokół pozwala na szybką izolację DNA plazmidowego z hodowli bakteryjnych.

1. Dodać 30 µl buforu aktywacyjnego **Buffer Uni** do minikolumny (nie wirować). Pozostawić w temperaturze pokojowej do momentu naniesienia lizatu (punkt 7) na minikolumnę.
 - *Dodanie buforu aktywacyjnego Buffer Uni 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. Zwirować 1.0-3 ml nocnej (11-14 h) hodowli bakteryjnej przy 12 000 x g przez 2 min w probówce typu Eppendorf.
 - *Rekomendowane szczepy Escherichia coli do propagacji plazmidowego DNA posiadają genotyp endA⁻, m.in.: DH5a, DH1, JM103-109, XL1-Blue, MM294 i C600. Stosując szczepy mające genotyp endA⁺ m.in.: BL21, RR1, DH11S, JM101, HB101, TG1 i TB1 otrzymuje się plazmidowe DNA niższej jakości.*
3. Dokładnie zawiesić osad bakteryjny w 250 µl buforu do zawieszania **Cell R**.
4. Dodać 250 µl niebieskiego buforu lizującego **Lysis Blue**. Powoli mieszać zawartość, poprzez ostrożne kilkukrotne odwracanie probówki, aż do uzyskania jednolitej, niebieskiej zawiesiny.
 - *Alkaliczny roztwór Lysis Blue zawiera SDS, który może precipitować podczas przechowywania przy temperaturze otoczenia poniżej 20°C. W takim wypadku należy podgrzać bufor do 37°C, aż do wyklarowania roztworu.*
 - *Zbyt intensywne mieszanie zawiesiny komórek z buforem lizującym powoduje nieodwracalną denaturację części plazmidowego DNA oraz zanieczyszczenie plazmidu fragmentami chromosomalnego DNA.*
5. Dodać 350 µl buforu **Neutral B**. Dokładnie i powoli mieszać zawartość probówki poprzez kilkukrotne odwracanie, aż do całkowitego zaniku niebieskiej barwy zawiesiny.

6. Wirować w mikrowirówce przez 7 min z prędkością 12 000 x g.
7. Przenieść maksymalnie 700 µl klarownego supernatantu do **kolumnienki wiążącej**, umieszczonej w próbówce odbierającej. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
8. Przenieść pozostałość supernatantu (jeżeli pozostał) do tej samej **kolumnienki wiążącej**. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w próbówce odbierającej.
9. Dodać 500 µl buforu płuczącego **Wash UX1** i wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
10. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i powtórnie umieścić minikolumnę w próbówce.
11. Dodać 650 µl buforu płuczącego **Wash UX2** i wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
12. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w próbówce odbierającej.
13. Wirować przez 2 min z prędkością 11 000 x g w celu usunięcia resztek buforu płuczącego.
14. Minikolumnę umieścić w nowej próbówce typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 50-100 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 plazmidów (powyżej 6 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 późniejszym 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.*
15. Minikolumnę pozostawić na 2 min w temperaturze pokojowej.
16. Wirować minikolumnę przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
17. Usunąć minikolumnę, zamknąć próbkę. DNA jest gotowe do dalszych analiz/manipulacji, może być przechowywane w 2-8°C lub zamrożone w -20°C.

Środki ostrożności

Buffer Uni



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.

Basic



Uwaga

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

H412 Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

P261 Unikać wdychania par/ rozpylonej cieczy.

P273 Unikać uwolnienia do środowiska.

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.

EUH032 W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.

Lysis Blue



Uwaga

H315 Działa drażniąco na skórę.

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.

P302+P352 W przypadku kontaktu ze skórą: umyć dużą ilością wody.

P332+P313 W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

Neutral B



Uwaga

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 UX1



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 UX2



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 Basic DNA Purification Kit jest podstawowym narzędziem przydatnym w każdym laboratorium pracującym z DNA.**

Pozwala na wykonanie trzech elementarnych technik laboratoryjnych: oczyszczania DNA po obróbce enzymatycznej, izolacji DNA z żeli agarozowych oraz izolacji DNA plazmidowego z hodowli bakteryjnych. Łącząc w sobie te możliwości zestaw wpływa na usprawnienie pracy i pozwala na zminimalizowanie kosztów projektów naukowych.

Protokół „Oczyszczanie PCR/DNA” pozwala na szybkie oczyszczenie m. in. produktów PCR, fragmentów restrykcyjnych, molekuł DNA po obróbce enzymatycznej oraz znakowaniu izotopowym lub chemicznym. Protokół jest zoptymalizowany w celu wiązania fragmentów DNA w szerokim zakresie wielkości (od 100 bp do ponad 15 kbp) oraz w celu usuwania sprawiających szczególnie trudności inhibitorów restrykcji i ligacji DNA. Zestaw pozwala na efektywnie usuwane z próbki DNA zanieczyszczeń takich jak: bromek etyldyny, 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.

Protokół „Izolacja z Agarozy” pozwala na szybkie oczyszczenie liniowych lub kolistych cząsteczek DNA o wielkości od ok. 100 pz do ponad 10 kbp, rozdzielanych na TAE- lub TBE-żelu agarozowym. Poza usunięciem agarozy z próbki DNA efektywnie usuwane są zanieczyszczenia takie jak: bromek etyldyny, RNA, nukleotydy, primery, znaczniki

radioaktywne i nieradioaktywne, detergenty, związki buforowe, sole, EDTA, inhibitory restrykcji i ligacji DNA, barwniki, enzymy i inne białka.

Protokół „Izolacja DNA Plazmidowego” pozwala na szybkie uzyskanie plazmidowego DNA o bardzo wysokiej czystości z różnorodnych gatunków bakterii, w tym rekombinowanej *Escherichia coli*. Z surowego lizatu bakteryjnego efektywnie usuwane są zanieczyszczenia takie jak: genomowe DNA, RNA, białka, lipidy, barwniki, detergenty, związki buforowe, sole. Komponenty użyte do konstrukcji zestawu zostały zoptymalizowane pod kątem usuwania uciążliwych inhibitorów restrykcji DNA oraz niespecyficznych endo- i egzonukleaz z lizatu bakteryjnego. Zabarwiony bufor lizujący ułatwia śledzenie dokładności wymieszania zawiesiny bakterii z buforem, postępu uwalniania zawartości komórek oraz jednoczesną pracę z wieloma próbkami.

We wszystkich protokołach dodanie specjalnego buforu wytwarza warunki do selektywnego wiązania DNA do membran. Podczas krótkiego wirowania następuje wiązanie DNA, 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 precipytacji 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 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 złożeń 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

