

GeneMATRIX Quick Blood DNA Purification Kit

Zestaw do szybkiej izolacji DNA z krwi świeżej i mrożonej

● kat. nr. E3565

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
Dodatek 1: Liza erytrocytów	6
Środki ostrożności	7

Składniki zestawu	50 izolacji E3565-01	150 izolacji E3565-02	Warunki przechowywania
Buffer QB	1.8 ml	5.4 ml	15-25°C
RNase A (10 mg/ml)	0.12 ml	0.36 ml	2-8°C
Proteinase K (20 mg/ml)	0.6 ml	1.8 ml	-20°C
Sol QB	12 ml	36 ml	15-25°C
Wash QBX1	30 ml	90 ml	15-25°C
Wash QBX2	30 ml	90 ml	15-25°C
Elution	18 ml	54 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 umożliwia szybką izolację DNA z krwi, surowicy, osocza i innych płynów biologicznych.

UWAGA 2 • Maksymalna ilość użytego materiału. Izolację należy wykonać z próbki o objętości 200 µl. W przypadku próbki o mniejszej objętości, płyn należy uzupełnić do 200 µl za pomocą buforu PBS. W przypadku gdy objętość krwi jest w zakresie 0.2-1 ml, w celu redukcji objętości próbki należy przeprowadzić lizę erytrocytów zgodnie z Dodatkiem 1 (strona 6). Izolację DNA przeprowadza się wówczas z leukocytów. Ogólna pojemność minikolumny to 25 µg DNA. Maksymalna objętość płynu nanoszonego na minikolumnę to 700 µl.

UWAGA 3 • Dodatkowe zalecenia. W przypadku izolacji wirusowego DNA zaleca się użycie 200 µl surowicy lub osocza. Pozwala to otrzymać wirusowe DNA niezanieczyszczone komórkowym DNA. Do oczyszczania wirusowego DNA z płynów ustrojowych polecamy zestaw Viral RNA/DNA Purification Kit (nr kat. E3592).

UWAGA 4 • Przechowywanie próbek. Krew można przechowywać w obecności antykoagulantów w temperaturze 4°C (do kilku dni) lub w postaci zamrożonej (preferowana temperatura -70°C).

UWAGA 5 • Przechowywanie składników zestawu. Po rozpakowaniu, zestaw należy przechowywać w temperaturze pokojowej, za wyjątkiem RNazy A i Proteinazy K. RNazę A należy przechowywać w 2-8°C, natomiast Proteinazę K w -20°C.

UWAGA 6 • Dobra praktyka laboratoryjna. Wszelkie roztwory z zestawu do oczyszczania DNA należy przechowywać szczelnie zamknięte, aby uniknąć zmiany stężeń w wyniku parowania.

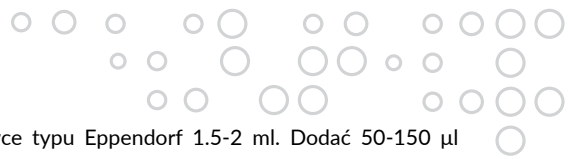
UWAGA 7 • Elution jest buforem o niskiej zawartości soli, w składzie nie zawiera chelatorów jonów metali (np. EDTA), które mogą hamować reakcje enzymatyczne. DNA rozpuszczone w buforze Elution może być wykorzystane do trawienia enzymami restrykcyjnymi, kinazowania, ligacji, sekwencjonowania metodą Sangera lub NGS itd. DNA można też wyciągnąć z kolumnki z użyciem Tris-HCl, wody lub TE.

Wypożyczenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika

- Etanol 96-100%, bufor PBS, mikrowirówka, rękawiczki, jałowe tipsy, jałowe probówki 1.5-2 ml, wortex. Blok grzejny pozwalający na inkubację próbki w temperaturze 70°C.
- Jeżeli początkowa objętość krwi przekracza 400 µl – odpowiedniej wielkości, jałowe probówki do lizy erytrocytów.
- Opcjonalnie bufor do lizy erytrocytów Lyse RBC (EURx nr kat. E0326).
- Aby przygotować bufor PBS należy: rozpuścić 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.44 g Na₂HPO₄ i 0.24 g KH₂PO₄ w 800 ml H₂O. Doprowadzić pH do 7.4 za pomocą HCl i uzupełnić H₂O do 1000 ml. Wyjałowić.

Protokół

1. Dodać 30 µl buforu aktywacyjnego **Buffer QB** do minikolumny (nie wirować). Pozostawić w temperaturze pokojowej do momentu naniesienia lizatu na minikolumnę.
 - Dodanie buforu aktywacyjnego Buffer QB 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. Do próbki typu Eppendorf 1.5-2 ml dodać 200 µl krwi/płynu biologicznego.
 - Gdy objętość próbki jest mniejsza niż 200 µl, uzupełnić buforem PBS do objętości 200 µl.
 - Gdy objętość krwi jest w zakresie 0.2-1 ml, należy wykonać liżę erytrocytów zgodnie z Dodatkiem 1.
 - Jeśli istotne jest otrzymanie preparatu DNA niezawierającego RNA, dodać 2 µl RNase A. Wymieszać przez worteksowanie i inkubować 5 min w temperaturze pokojowej.
3. Dodać 10 µl **Proteinase K** i 200 µl buforu **Sol QB**.
4. Dokładnie wymieszać przez worteksowanie.
5. Inkubować 10-15 min w 70°C.
6. Dodać 200 µl alkoholu etylowego (96-100%). Dokładnie wymieszać przez worteksowanie.
7. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
8. Przenieść całość lizatu do minikolumny, znajdującej się w próbówce odbierającej.
9. Wirować przez 2 min z prędkością 11 000 x g.
 - W przypadku niecałkowitego przefiltrowania lizatu przez złożę wirowanie należy kontynuować.
10. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w próbówce odbierającej.
11. Dodać 500 µl buforu płuczącego **Wash QBX1** do minikolumny 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. Dodać 500 µl buforu płuczącego **Wash QBX2** 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 próbówce i ponownie wirować przez 1 min.

- 
- 14.** Minikolumnę umieścić w nowej probówce typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 50-150 μ l 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 W celu podniesienia wydajności odpłukania z membran DNA genomowego można bufor Elution ogrzać do temp. 80°C.
- 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 probówkę. DNA jest gotowe do dalszych analiz/manipulacji, może być przechowywane w 2-8°C lub zamrożone w -20°C.



Dodatek 1: Liza erytrocytów

W przypadku gdy objętość krwi przekracza 200 μl .

1. Do próbki krwi dodać 4 objętości buforu **Lyse RBC**. Wymieszać przez odwracanie probówki.
 - o Na przykład, do 300 μl krwi dodać 1200 μl buforu Lyse RBC.
 - o Maksymalna ilość krwi to 1.0 ml.
2. Pozostawić w 4°C na 10 minut w celu lizy erytrocytów. Wymieszać dwa razy.
3. Wirować próbkę przez 10 min w 4°C z prędkością 1 000 x g. Wylać supernatant.
 - o Ostrożnie zebrać pipetą znad osadu resztkę supernatantu.
4. Pellet zawiesić w 150 μl buforu PBS lub jałowej wody. Wymieszać dokładnie przez worteksowanie lub pipetowanie.
5. Przejść do punktu 3 głównego protokołu.

Środki ostrożności

Buffer QB



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.

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 zatruc/ lekarzem

Sol QB



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 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.

EUH208 Zawiera dihydrochlorek etylenodiaminy. Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.

Wash QBX1



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 QBX2



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	E3610	E3615	E3620	E3625	E3630	E3635	E3640	E3645	E3650	E3655	E3660	E3665	E3670	E3675	E3680	E3685				
		MICELLULIA DNA ¹	GRAM PLUS & YEAST GENOMIC DNA	AGAROSE - OUI DNA	BACTERIAL & YEAST GENOMIC DNA	BIO - TRACE DNA	BASIC DNA	BONE DNA	CELL CULTURE DNA	FOOD EXTRACT DNA	PCR / DNA CLEANUP	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 ²											●										
		KREW													●								
		GLEBA																●					
		KAŁ																	●				
		WYMAZY																		●			
		TKANKI ZWIERZĘCE																				●	●
		TKANKI PARAFINA / FORMALINA																				●	●
		OGONY GRZYŹONI																				●	●
		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.

**DOBÓR ZESTAWU
W ZALEŻNOŚCI OD RODZAJU
IZOLOWANEGO MATERIAŁU**

		IZOLACJA RNA							
		E3700	E3594	E3596	E3598	E3599	E3593		
		RNA EXTRA COL ¹	UNIVERSAL BLOOD RNA	HUMAN BLOOD RNA	UNIVERSAL RNA	UNIVERSAL RNA/miRNA	FFPE RNA Purification Kit		
		IZOLACJE							
		25 100	25	25	25 100	25 100	25 100		
RNA	RNA POWYŻEJ 200 nt	TKANKI ZWIERZĘCE				●	●		
		TKANKI ROŚLINNE				●	●		
		BAKTERIE				●			
		DROŹDŹE				●			
		HODOWLE KOMÓRKOWE				●	●		
		KREW LUDZKA	ŚWIEŻA	●	●	●	●		
			MROŻONA ¹		●				
		KREW ZWIERZĘCA	ŚWIEŻA	●	●				
			MROŻONA ¹		●				
		miRNA LUB CAŁKOWITE RNA	TKANKI ZWIERZĘCE	●				●	
	TKANKI PARAFINA / FORMALINA							●	
	TKANKI ROŚLINNE						●		
	HODOWLE KOMÓRKOWE		●				●		
	BAKTERIE		●						
	DROŹDŹE		●						
	KREW/LEUKOCYTY		●						
	OCZYSZCZANIE PO REAKCJACH ENZYMATYCZNYCH					●	●		
	TRAWIENIE DNazą I NA KOLUMIENCIE			●		●			

Wszystkie zestawy zawierają bufony WASH w formie gotowej do bezpośredniego użytku

1. Mrożone w buforze Lyse Blood (występuje w zestawie).
2. Mieszanina fenolu i soli chaotropowych przeznaczona do izolacji całkowitego RNA.

- **GeneMATRIX Quick Blood DNA Purification Kit jest przeznaczony do szybkiej izolacji genomowego DNA z krwi świeżej i mrożonej, osocza, surowicy i innych płynów biologicznych. Zestaw umożliwi także izolację wirusowego DNA z próbek krwi. Oczyszczone DNA nie zawiera zanieczyszczeń m.in. takich jak: RNA, białka, lipidy, barwniki, detergenty, organiczne inhibitory enzymów, związki buforowe, sole, kationy dwuwartościowe.**

Próbka krwi/płynu biologicznego poddawana jest lizie w obecności buforu zawierającego duże stężenia soli chaotropowych i Proteinazy K. Proteinaza K całkowicie degraduje białka komórkowe, w tym białka wiążące DNA i nukleazy. Dodanie etanolu wytwarza odpowiednie 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 są skutecznie usuwane ze złoża w trakcie dwóch etapów płukania. Elucję oczyszczonego DNA wykonuje się buforem niskosolnym, np.: zawierającym Tris-HCl, TE lub wodą destylowaną. Oczyszczony preparat DNA jest gotowy 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_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

