

GeneMATRIX Gram Plus & Yeast Genomic DNA Purification Kit

Uniwersalny zestaw do oczyszczania DNA genomowego z bakterii Gram-dodatnich, drożdży oraz drobnoustrojów bytujących w niewielkich pajęczakach/owadach.

● **kat. nr. E3585**

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	4
Protokół.....	5
Część I Aktywacja minikolumn wiążących DNA	5
Część II Przygotowanie komórek.....	5
Bakterie	5
Drożdże.....	5
Część III Liza, homogenizacja i izolacja DNA	6
Dodatek 1: Izolacja DNA z mikroorganizmów obecnych w małych pajęczakach/owadach	8
DNA genomowe wyizolowane przy użyciu zestawu	10
DNA wyizolowane z mikroorganizmów obecnych w kleszczach	11
Środki ostrożności	12

Uwagi wstępne

UWAGA 1 • Przeznaczenie zestawu. Zestaw jest przeznaczony do izolacji DNA genomowego z bakterii Gram-dodatnich oraz różnorodnych gatunków drożdży. Zestaw umożliwia izolację DNA z mikroorganizmów występujących w niewielkich pajęczakach/owadach (np. *Borrelia burgdorferi* w kleszczach). Należy wówczas postępować zgodnie z Dodatkiem 1 strona 8.

UWAGA 2 • Maksymalna ilość użytego materiału. Najwyższej jakości DNA uzyskuje się z hodowli bakteryjnych znajdujących się w fazie logarytmicznej wzrostu lub wczesnej fazie stacjonarnej. Ogólna pojemność minikolumny to 25 µg DNA. Ze względu na duże różnice w tempie wzrostu i wielkości komórek różnych rodzajów bakterii gram-dodatnich oraz drożdży, należy empirycznie ustalić optymalną objętość zwirowanej hodowli. Ogólnie masa osadu po zwirowaniu nie powinna przekraczać 50 mg a objętość hodowli przypadająca na jeden prep 1.0 ml. Nie należy używać więcej niż 1×10^9 komórek drożdżowych na jeden prep. W przypadku zbyt dużej lepkości lizatu i zapychania się minikolumny należy zmniejszyć ilość początkową osadu (bakterii, drożdży) użytą do izolacji.

UWAGA 3 • Przechowywanie komponentów zestawu. Po rozpakowaniu, zestaw do oczyszczania DNA genomowego należy przechowywać w temperaturze pokojowej, za wyjątkiem roztworu BL (zawiera lizozym), oraz Proteiny K które należy przechowywać w -20°C . RNase A należy przechowywać w $2-8^{\circ}\text{C}$. Bufor Lyse BGplus posiada komponenty mogące rozdzielić się na fazy. Należy nim wstrząsnąć i dobrze wymieszać przed użyciem.

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 wymyc z kolumnki z użyciem Tris-HCl, wody lub TE.

Ze względu na dużą różnorodność w budowie bakterii gram-dodatnich oraz drożdży i ścianę komórkową wyjątkowo oporną na lizę, w zestawie zastosowano uniwersalną metodę homogenizacji i lizy komórek bakteryjnych oraz drożdżowych polegającą na ich mechanicznym rozcieraniu za pomocą kulek szklanych o różnej średnicy w środowisku bogatym w detergenty. Metoda ta pozwala na osiągnięcie zadowalającej wydajności izolacji DNA genomowego bez konieczności stosowania enzymów specyficznych dla danej grupy bakterii bądź drożdży. Dzięki temu otrzymujemy uniwersalny system pozwalający na uwolnienie materiału genetycznego z całego spektrum organizmów wyjątkowo opornych na lizę komórki. Zoptymalizowana procedura oraz specjalny skład buforu do lizy pozwala na uniknięcie nadmiernej fragmentacji DNA genomowego oraz maksymalizację wydajności.

Składniki zestawu	25 izolacji E3585-01	100 izolacji E3585-02	Warunki przechowywania
Buffer BG	0.9 ml	3.6 ml	15-25°C
Lyse BG plus	20 ml	78 ml	15-25°C
BL *	1.5 ml	6 ml	-20°C
RNase A (10 mg/ml)	0.06 ml	0.24 ml	2-8°C
Proteinase K (20 mg/ml)	0.45 ml	1.8 ml	-20°C
Sol BG	12 ml	48 ml	15-25°C
Wash BGX	27 ml	108 ml	15-25°C
Elution	3 ml	12 ml	15-25°C
DNA Binding Columns	25 szt.	2 x 50 szt.	15-25°C
Bead Tube Dry	25 szt.	2 x 50 szt.	15-25°C
Filtration Columns	25 szt.	2 x 50 szt.	15-25°C
Protokół	1	1	

* Bufor BL zawiera lizozym (20 mg/ml).

Wyposażenie i odczynniki dostarczane przez użytkownika

- Wortex pozwalający na wytrząsanie kilku próbek jednocześnie bądź wyspecjalizowane przyrządy, nazywane ang. “bead beater” lub “cell disrupter” (np. FastPrep, Precellys, Disruptor Genie). Pozwala to na uzyskanie większej wydajności izolacji DNA, jednakże w tym wypadku wymagana jest optymalizacja czasu wytrząsania (skrócenie w stosunku do czasu podanego w protokole).
- Mikrowirówka, rękawiczki, pipety, jałowe tipsy, jałowe probówki 1.5-2 ml, blok grzejny pozwalający na inkubację próbki w temperaturze z zakresu 37-70°C.
- W przypadku izolacji DNA z mikroorganizmów występujących w owadach (Dodatek 1 strona 8) – Tissue Grinding Tool nr kat. E0359 oraz alkohol etylowy 96-100%.

Protokół

Część I Aktywacja minikolumn wiążących DNA

1. Dodać 30 µl buforu aktywacyjnego **Buffer BG** do minikolumny (nie wirować). Pozostawić w temperaturze pokojowej do momentu naniesienia lizatu na minikolumnę.
 - *Dodanie buforu aktywacyjnego Buffer BG centralnie na powierzchnię membran zapewnia kompletne nasączenie membran buforem aktywacyjnym i uzyskanie maksymalnej wydajności wiązania DNA.*
 - *Aktywację należy wykonać przed rozpoczęciem procedury izolacji DNA.*

Część II Przygotowanie komórek

Bakterie

2. W probówce 1.5-2 ml typu Eppendorf zwirować odpowiednią ilość hodowli bakteryjnej (ok. 0.1- 0.5 ml), dokładnie usunąć supernatant i zawiesić osad w 300 µl buforu **Lyse BGplus**.
 - *Dokładne zawieszenie bakterii jest niezbędne do oczyszczenia DNA z wysoką wydajnością. Niektóre bakterie tworzą osady trudne do zawieszenia (np. Streptomyces). Należy wówczas z dużą starannością rozdrobnić pellet na możliwie najmniejsze części tworząc homogenny roztwór.*
 - *Bufor Lyse BGplus posiada komponenty mogące rozdzielić się na fazy. Należy nim wstrząsnąć i dobrze wymieszać przed użyciem.*
3. Dodać 50 µl roztworu **BL** oraz 2 µl **RNase A** do zawiesiny komórek i dokładnie wymieszać przez kilkukrotne odwracanie, pipetowanie lub worteksowanie.
4. Inkubować 15 min w 37°C.
5. Przejść do części III protokołu.

Drożdże

1. Zwirować odpowiednią ilość hodowli drożdży, tak aby masa osadu komórek nie przekraczała 50 mg. Dokładnie usunąć supernatant i zawiesić osad w 200 µl buforu **Lyse BGplus**.
 - *Dokładne zawieszenie drożdży jest niezbędne do oczyszczania DNA z wysoką wydajnością.*
 - *Ze względu na duże różnice w tempie wzrostu i wielkości komórek różnych szczepów drożdży, należy empirycznie ustalić optymalną objętość zwirowanej hodowli (np. 1 ml 24-godzinnej hodowli*

większości szczepów *Pichia pastoris*). Nie należy używać więcej niż 1×10^9 komórek drożdżowych na jeden prep.

- Bufor Lyse BGplus posiada komponenty mogące rozdzielić się na fazy. Należy nim wstrząsnąć i dobrze wymieszać przed użyciem.
2. Wirować z prędkością 11 000 x g przez 1 min, dokładnie usunąć supernatant i ponownie zawiesić w 350 µl buforu **Lyse BGplus**.
 3. Inkubować 15 min w 55°C.
 4. Przejść do części III protokołu.

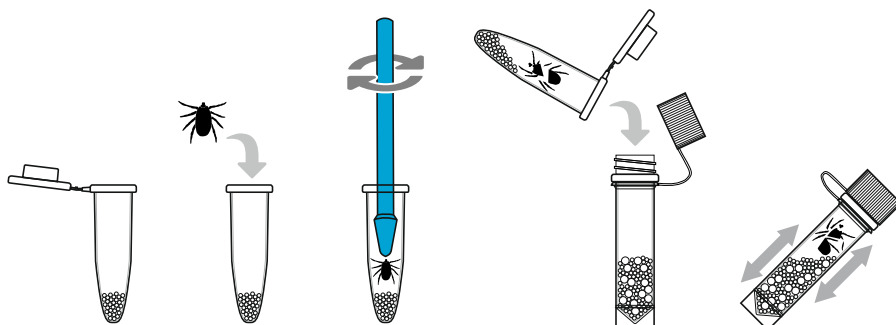
Część III Liza, homogenizacja i izolacja DNA

1. Zawiesinę komórek przenieść do próbki z kulkami szklanymi **BeadTubeDry**.
 - Przełać bądź przenieść pipetą.
2. Probówki **BeadTubeDry** umieścić w wortexsie. Użyć w tym celu specjalnego adaptera. Wortexsować przez 10 min z maksymalną prędkością.
 - Do wytrząsania probówek BeadTubeDry można użyć wyspecjalizowanych przyrządów, nazywanych ang. "bead beater" lub "cell disrupter" (np. FastPrep, Precellys, Disruptor Genie), co pozwala na uzyskanie większej wydajności izolacji DNA. Wówczas w celu uniknięcia fragmentacji DNA wymagana jest optymalizacja czasu wytrząsania (jego skrócenie).
 - Po etapie wytrząsania, w przypadku silnego spienienia próbki, próbki BeadTubeDry można zwirować z prędkością 5 000 x g przez 30 sek.
3. Dodać 15 µl **Proteinyzy K** do zawiesiny komórek i dokładnie wymieszać poprzez kilkukrotne odwracanie próbki.
 - Proteinazę K dodać do próbki BeadTubeDry z kulkami szklanymi i zawiesiną zlizowanych komórek.
4. Inkubować 30 min w 55°C.
 - W czasie inkubacji można kilkukrotnie wymieszać zawartość próbki przez jej odwracanie.
5. Probówki **BeadTubeDry** umieścić w wortexsie. Użyć w tym celu specjalnego adaptera. Wortexsować przez 5 min z maksymalną prędkością.
 - W przypadku drożdży etap ten nie jest konieczny. Przejść do punktu 6.
 - Po etapie wytrząsania, w przypadku silnego spienienia próbki, próbki BeadTubeDry można zwirować z prędkością 5 000 x g przez 30 sek. Po wirowaniu próbkę dokładnie wymieszać kilkukrotnie odwracając próbkę.
6. Przenieść zawartość próbki **BeadTubeDry** razem z kulkami szklanymi do **kolumny filtrycyjnej** umieszczonej w próbce odbierającej.


- Przechylić probówkę **BeadTubeDry** i przelać zawartość do kolumnki filtracyjnej. Podczas wirowania lizat zostanie przesączony i dodatkowo zhomogenizowany.
7. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
 8. Usunąć **kolumnkę filtracyjną**. Do przesączu dodać 380 µl buforu **Sol BG**. Dokładnie wymieszać przez pipetowanie zawieszając również osad jeżeli powstał podczas wirowania. Przenieść zawartość do nowej probówki typu Eppendorf 1.5-2 ml.
 9. Inkubować 5 min w 55°C.
 10. Wirować przez 2 min z maksymalną prędkością.
 11. Przenieść klarowny supernatant do **kolumnki wiążącej**.
 - Zwrócić uwagę aby nie przenieść pelletu jeżeli powstał w trakcie wirowania.
 12. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
 13. Dodać 600 µl buforu płuczącego **Wash BGX** do minikolumny. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
 14. Wyjąć minikolumnę, wylać przesącz i umieścić minikolumnę z powrotem w probówce odbierającej.
 15. Dodać 300 µl buforu płuczącego **Wash BGX** do minikolumny. 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.
 16. Minikolumnę umieścić w nowej probówce typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 50-80 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 odplukania z membran DNA genomowego można bufor Elution ogrzać do temp. 80°C.
 17. Minikolumnę pozostawić na 2 min w temperaturze pokojowej.
 18. Wirować minikolumnę przez 2 min z prędkością 11 000 x g.
 19. Usunąć minikolumnę, zamknąć probówkę. DNA jest gotowe do dalszych analiz/manipulacji, może być przechowywane w 2-8°C lub zamrożone w -20°C (należy unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania DNA).

Dodatek 1: Izolacja DNA z mikroorganizmów obecnych w małych pajęczakach/owadach

Protokół jest zoptymalizowany w kierunku izolacji DNA z drobnoustrojów (bakterie, wirusy, grzyby) bytujących w małych (do 5 mm długości) pajęczakach lub owadach. Pierwszym etapem izolacji jest rozdrobnienie materiału. W tym celu należy użyć Tissue Grinding Tool. Jest to wygodne narzędzie pozwalające na rozcieranie małych porcji tkanek roślinnych, zwierzęcych, osadów bakteryjnych bądź drożdżowych, w ilościach odpowiadających jednej izolacji. Zestaw składa się z probówki 1.5 ml typu Eppendorf zawierającej niewielką ilość złoża ścierającego oraz patyczka z końcówką o specjalnie dopasowanym kształcie. Próbkę należy rozdrabniać w niewielkiej ilości roztworu lizującego. Tissue Grinding Tool dostępne jest oddzielnie, nr kat. E0359. Po wstępnym rozdrobnieniu i uwolnieniu mikroorganizmów bytujących w żywicielu należy przeprowadzić właściwą homogenizację mieszaniny. W tym celu, po trawieniu Proteinazą K, należy przenieść zawartość probówki do BeadTubeDry (znajdują się w zestawie) i wykonać wytrząsanie w worteksie lub dedykowanym urządzeniu (punkt 5 uwaga 1).



1. Do probówki z wybranym złożem ścierającym dodać 200 μ l buforu lizującego **Lyse BGplus**. Następnie dodać materiał (pajęczak/owad) i rozetrzeć obracając patyczkiem.
 - o W przypadku gdy pajęczak/owad jest bardzo mały (np. kleszcz pospolity) rozcieranie lepiej wykonać w mniejszej objętości Lyse BGplus np. 50 μ l. Wówczas przed dodaniem Proteinazy K należy dopełnić objętość Lyse BGplus do 200 μ l.
2. Wyjąć patyczek, dodać 15 μ l **Proteinazy K**. Wortexować kilka sekund bądź dokładnie wymieszać przez odwracanie probówki.
3. Inkubować 30 min w 60°C.
4. Dodać 400 μ l buforu **Lyse BGplus** i przenieść mieszaninę do probówki z kulkami szklanymi **BeadTubeDry**.

- 
5. Probówki **BeadTubeDry** umieścić w wortexsie. Użyć w tym celu specjalnego adaptera. Wortexsować przez 10 min z maksymalną prędkością.
 - Do wytrząsania probówek **BeadTubeDry** można użyć wyspecjalizowanych przyrządów, nazywanych ang. "bead beater" lub "cell disrupter" (np. FastPrep, Precellys, Disruptor Genie), co pozwala na uzyskanie większej wydajności izolacji DNA. Wówczas, w celu uniknięcia fragmentacji DNA, wymagana jest optymalizacja czasu wytrząsania (jego skrócenie).
 - Po etapie wytrząsania, w przypadku silnego spienienia próbki, probówki **BeadTubeDry** można zwirować z prędkością 5 000 x g przez 30 sek.
 6. Przenieść zawartość probówki **BeadTubeDry** razem z kulkami szklanym do **kolumniki filtracyjnej** umieszczonej w probówce odbierającej.
 - Przechylić probówkę **BeadTubeDry** i przelać zawartość do kolumniki filtracyjnej. Podczas wirowania lizat zostanie przesączony i dodatkowo zhomogenizowany.
 7. Wirować przez 1 min z prędkością 10 000 x g.
 8. Usunąć **kolumnikę filtracyjną**. Dokładnie wymieszać przesącz przez pipetowanie, zawieszając również osad jeżeli powstał podczas wirowania. Pobrać 400 µl przesączu i przenieść do nowej probówki typu Eppendorf 1.5-2 ml.
 9. Dodać 400 µl buforu **SoI BG** i dokładnie wymieszać. Inkubować 5 min w 70°C.
 10. Wirować przez 2 min z maksymalną prędkością.
 11. Ostrożnie przenieść roztwór do nowej probówki typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 300 µl 96-100% alkoholu etylowego i dokładnie wymieszać.
 12. Przenieść maksymalnie 600 µl mieszaniny do **kolumniki wiążącej** umieszczonej w probówce odbierającej. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
 13. Przenieść pozostałość mieszaniny do tej samej **kolumniki wiążącej**. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g. Wylać przesącz.
 14. Dodać 600 µl buforu płuczącego **Wash BGX** do minikolumny. Wirować przez 1 min z prędkością 11 000 x g.
 15. Dodać 300 µl buforu płuczącego **Wash BGX** do minikolumny. 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.

16. Minikolumnę umieścić w nowej probówce typu Eppendorf 1.5-2 ml. Dodać 50-80 μ l buforu **Elution**.

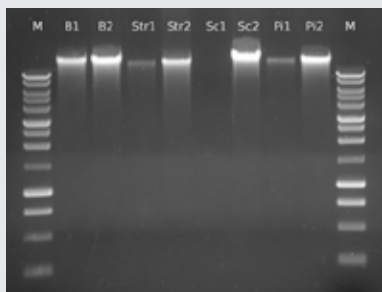
o Dodanie buforu elującego centralnie na powierzchnię membrany zapewnia uzyskanie maksymalnej wydajności odzysku DNA. Należy unikać dotykania ścianek minikolumny mikropipetą, aby nie przenosić śladów DNA pomiędzy kolejnymi minikolumnami.

17. Minikolumnę pozostawić na 2 min w temperaturze pokojowej.

18. Wirować minikolumnę przez 2 min z prędkością 11 000 x g.

19. Usunąć minikolumnę, zamknąć probówkę. DNA jest gotowe do dalszych analiz/manipulacji, może być przechowywane w 2-8°C lub zamrożone w -20°C (należy unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania DNA).

DNA genomowe wyizolowane przy użyciu zestawu



1 izolacja bez lizy mechanicznej i bez specyficznych enzymów;

2 izolacja wg. powyższego protokołu z użyciem Bead Tubes (kulek szklanych), bez specyficznych enzymów;

B *Bacillus subtilis*;

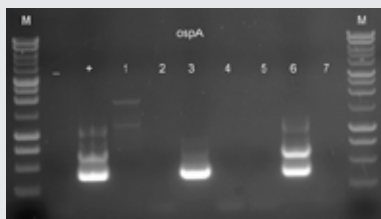
Str *Streptomyces caespitosus*;

Sc *Staphylococcus aureus*;

Pi *Pichia pastoris*;

M wzorzec wielkości Perfect PlusTM1 kb (EURx).

DNA wyizolowane z mikroorganizmów obecnych w kleszczach



Wewnętrzny PCR (ang. nested PCR) wykonany na matrycy DNA wyizolowanego z kleszczy pospolitych. Docelowy gen *ospA* na plazmidzie lp54 bakterii *Borrelia burgdorferi*. Użyto po 4 μ l izolatu oraz polimerazę Taq (EURx nr kat. E2500).

- kontrola negatywna;

+ kontrola pozytywna, DNA *Borrelia burgdorferi* (2 μ g);

3, 6 wynik pozytywny;

M wzorec wielkości Perfect PlusTM1 kb (EURx).



Wewnętrzny PCR (ang. nested PCR) wykonany na matrycy DNA wyizolowanego z kleszczy pospolitych. Docelowy gen flagelliny bakterii *Borrelia burgdorferi*. Użyto po 4 μ l izolatu oraz polimerazę Taq (EURx nr kat. E2500).

- kontrola negatywna;

+ kontrola pozytywna, DNA *Borrelia burgdorferi* (2 μ g);

3, 6 wynik pozytywny;

M wzorec wielkości Perfect PlusTM1 kb (EURx).

Środki ostrożności

Buffer BG

Uwaga



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 BG plus

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 zatruc/ lekarzem.

Sol BG

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.

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 BGX

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 KWAŚÓW NUKLEINOWYCH																					
		E3800	E3885	E3840	E3880	E3910	E3845	E3860	E3855	E3825	E3820	E3895	E3835	E3800	E3865	E3915	E3970	E3975	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 50	50 150	25 100	50 150	50 150	50 150	50 150	50 150	25 100	50 100	50 100	25 100	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 GRYZONI																				●	●
		WŁOSY																				●	●
		OWADY																				●	●
		MOCZ																				●	●
		KOŚCI								●													
	ŚLADY BIOLOGICZNE					●																	
	ŻYWNOSĆ									●													
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 EXTRAOL ²	UNIVERSAL BLOOD RNA	HUMAN BLOOD RNA	UNIVERSAL RNA	UNIVERSAL RNA/miRNA	FPE RNA Purification Kit		
		IZOLACJE							
		25 100	25	25	25 100	25 100	25 100		
RNA	RNA POWYŻEJ 200 nt	TKANKI ZWIERZĘCE				●	●		
		TKANKI ROŚLINNE				●	●		
		BAKTERIE				●			
		DROŹDŻE				●			
		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	●						
		DROŹDŻE	●						
		KREW/LEUKOCYTY	●						
	OCZYSZCZANIE PO REAKCJACH ENZYMATYCZNYCH					●	●		
	TRAWIENIE DNazą I NA KOLUMIENCIE			●		●			

Wszystkie zestawy zawierają bufor 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 Gram Plus & Yeast Genomic DNA Purification Kit jest przeznaczony do szybkiej izolacji genomowego DNA z różnorodnych grup fizjologicznych bakterii gram-dodatnich oraz różnorodnych gatunków i szczepów drożdży. Zestaw umożliwi również izolację DNA z mikroorganizmów występujących w niewielkich pajęczakach/owadach (np. *Borrelia burgdorferi* w kleszczach).**

Zastosowana uniwersalna procedura pozwala uniknąć stosowania kosztownych enzymów lizujących specyficznych dla danej grupy organizmów. Oczyszczone DNA nie zawiera zanieczyszczeń m.in. takich jak: RNA, białka, lipidy, barwniki, detergenty, organiczne inhibitory enzymów, związki buforowe, sole, kationy dwuwartościowe. Komórki bakteryjne lub drożdżowe poddane zostają lizie w obecności specjalnego buforu, naruszającego strukturę ściany komórkowej oraz lizozymu (bakterie). Wstępnie naruszona ściana komórkowa zostaje efektywnie zniszczona w wyniku mechanicznego tarcia kulek szklanych o specjalnie dobranej średnicy. Proteinaza K degraduje białka komórkowe oraz

uwalnia genomowe DNA z wiążących je białek oraz eliminuje nukleazy komórkowe. Dodanie specjalnego buforu wytwarza warunki do selektywnego wiązania DNA do membrany GeneMATRIX. Podczas krótkiego wirowania następuje wiązanie DNA do membrany, 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 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 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

