



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

Instrukcja

Gel-Out AX

Zestaw o zwiększonej wydajności do izolacji DNA z agarozy niskotopliwej (low melting point).
Procedura z precypitacją DNA.

numer katalogowy	wielkość
024-50	50 izolacji

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzi w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Spis treści

Skład	3
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	3
Niezbędne	3
Opcjonalne	3
Dodatkowe informacje	3
Protokół izolacji	4
Informacje Bezpieczeństwa	6

Skład

składnik	50 izolacji	przechowywanie
Kolumny Spin 10AX	50 szt.	4-8 °C
Probówki 2 ml	50 szt.	temp. pok.
LPD roztwór do rozpuszczania agarozy	30 ml	temp. pok.
K2 roztwór płuczący	55 ml	temp. pok.
K4 roztwór elucyjny	30 ml	temp. pok.
PM mieszanina precipitacyjna	25 ml	temp. pok.
TE bufor	5 ml	temp. pok.

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 1,5 ml typu Eppendorf
- 70% etanol
- Inkubator lub termoblok 60 °C (zalecany Thermomixer firmy Eppendorf)
- Worteks
- Mikrowirówka

Opcjonalne

- Woda jałowa (nr kat. 003-075, 003-25)
- Bufor Tris (10 mM, pH 8,0) (nr kat. 202-50, 202-150)

Dodatkowe informacje

- Pojemność kolumny: do 10 µg DNA
- Zakres wielkości fragmentów DNA: 100 pz-20 000 pz

Protokół izolacji

1. Wycięte bloczki agarozowe (do 200 mg) wraz z zawartym w nich DNA przenieść do probówek typu Eppendorf (nie ma w zestawie).

Elektroforezę można przeprowadzić w buforach TAE lub TBE.
- 2.. Dodać po **500 µl** roztworu **LPD** do rozpuszczania agarozy. Wymieszać próbki.
3. Inkubować w temp. **60 °C** do całkowitego rozpuszczenia agarozy (zwykle trwa to ok. 5-10 min). Podczas inkubacji próbki mieszać od czasu do czasu przez odwracanie probówek.
4. Po rozpuszczeniu agarozy, próbki pozostawić na **3 min** w **temp. pokojowej**.
5. Próbkę nanieść na kolumny Spin 10AX.
6. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.
7. Wyjąć kolumny Spin 10AX z probówek, wyłączyć przesącz. Włożyć kolumny Spin 10AX do **tych samych** probówek.
8. Dodać po **500 µl** roztworu płuczącego **K2**.
9. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.
10. Wyjąć kolumny Spin 10AX z probówek, wyłączyć przesącz. Włożyć kolumny Spin 10AX do **tych samych** probówek.
11. Dodać po **500 µl** roztworu płuczącego **K2**.
12. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.
13. Przenieść kolumny Spin 10AX do **nowych** probówek 2 ml (w zestawie).
14. Dodać po **250 µl** roztworu elucyjnego **K4**. Próbkę pozostawić na **2 min** w **temp. pokojowej**.
15. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.

16. Dodać po **250 µl** roztworu elucyjnego **K4**. Próbki pozostawić na **2 min** w **temp. pokojowej**.
17. **Wirować 30 s** przy **5000 RPM**. Usunąć kolumny Spin 10AX.
18. Mieszanina precipitacyjna PM zawiera wzmacniacz precipitacji, dlatego przed użyciem mieszaniny PM należy ją wymieszać poprzez kilkakrotne odwracanie butelki.

Do przesączu zawierającego DNA dodać po **400 µl** mieszaniny precipitacyjnej **PM**.
19. Wymieszać przez kilkakrotne odwracanie probówek.
Wirować 10 min przy **12 000 RPM**.
20. Usunąć supernatant, uważając aby nie usunąć niebieskich osadów DNA.

Na dnie probówki powinien być widoczny jasnoniebieski osad DNA. Niebieska barwa osadu umożliwia śledzenie procesu rozpuszczania DNA.
21. Dodać po **500 µl 70% etanolu** (nie ma w zestawie). Wymieszać.
Wirować 3 min przy minimum **12 000 RPM**.
22. Usunąć supernatant. Osady DNA suszyć przez odwrócenie probówek przez **5 min** w **temp. pokojowej**.

Jeżeli na ściankach probówki znajdują się resztki alkoholu, należy je osuszyć kawałkiem jałowej waty (doskonale nadają się do tego patyczki higieniczne lub pałeczki do pobierania wymazów).
23. Osady zawiesić w buforze **TE** lub wodzie jałowej wolnej od nukleaz (nie ma w zestawie) albo buforze Tris (nie ma w zestawie).

Niebieska barwa osadu umożliwia śledzenie procesu rozpuszczania DNA.
24. Oczyszczone DNA znajdujące się w probówkach przechowywać w temp. 4-8°C do czasu dalszych analiz.

Informacje Bezpieczeństwa



NIEBEZPIECZEŃSTWO

K2 roztwór płuczący

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
H319 Działa drażniąco na oczy.
H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.
P261 Unikać wdychania par.
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.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

K4 roztwór elucyjny

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
H319 Działa drażniąco na oczy.
H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.
P261 Unikać wdychania par.
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.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

PM mieszanina precypitacyjna

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
H319 Działa drażniąco na oczy.
H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.
P261 Unikać wdychania par.
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.



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

