syngen.pl kolumienki.pl

Syngen Stool DNA Mini Kit

Zawartość opakowania i warunki przechowywania

Syngen Stool DNA Mini Kit	zestaw demo	SY271010	SY271011
Liczba izolacji	4	50	100
Bufor DLS1	1,8 ml	20 ml	40 ml
Bufor DLS2	1,2 ml	7 ml	14 ml
Bufor DLS3	1,2 ml	15 ml	30 ml
Bufor DWS	1,5 ml x2	20 ml	40 ml
Bufor DPZ	1,5 ml	20 ml	35 ml
Bufor DE	1,5 ml	15 ml	30 ml
Proteinaza K	1,1 mg	11 mg	11 mg x2
Kolumienki DS	4 szt.	50 szt.	100 szt.
Probówki do kulek	4 szt.	50 szt.	100 szt.
Probówki 2 ml	8 szt.	100 szt.	200 szt.
Probówki 1,5 ml	4 szt.	50 szt.	100 szt.

Kolumienki DS, a także wszystkie roztwory poza rozpuszczoną proteinazą K, powinny być przechowywane w temperaturze pokojowej (15-25°C).

Proteinazę K po rozpuszczeniu należy przechowywać w 4°C.

Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem

- Etanol (96-100%)
- Probówki 1.5 ml i 2 ml (eppendorfki)
- Statyw
- Sterylne końcówki do pipet (najlepiej z filtrem)
- Pipety automatyczne nastawne
- Mikrowirówka
- Worteks
- Dwie łaźnie wodne, bloki grzejne lub termomiksery (jeden na 60°C, drugi na 70°C)
- Pokruszony lód

Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem

Proteinaza K

Proteinaza K jest dostarczana w postaci liofilizowanej. Aby przygotować porcję roztworu roboczego, probówkę zawierającą liofilizat proteinazy K należy krótko zwirować, dodać

- 110 ul wody destylowanej (czystości do PCR) – do probówki z 1,1 mg
- 1,1 ml wody destylowanej (czystości do PCR) – do probówki z 11 mg

Następnie zamknąć probówkę i dokładnie wymieszać, aż do całkowitego rozpuszczenia. Po rozpuszczeniu roztwór roboczy proteinazy K należy przechowywać w temperaturze 4°C.

Bufor płuczący

Bufor płuczący DPZ jest dostarczany jako koncentrat. Przed pierwszym użyciem dodaj do niego odpowiednią ilość etanolu (96-100%) i starannie wymieszaj. Poniższa tabela przedstawia sposób przygotowania buforu płuczącego.

Syngen Stool DNA Mini Kit	zestaw demo	SY271010	SY271011
Liczba izolacji	4	50	100
Objętość etanolu, jaką należy dodać do koncentratu buforu płuczącego DPZ	6 ml	80 ml	140 ml

Bufor DPZ po dodaniu etanolu powinien być szczelnie zamknięty i przechowywany w temperaturze pokojowej. Przed rozpoczęciem procedury zawsze wymieszaj rozpuszczony bufor przez obrócenie butelki kilka razy.

Materiał wyjściowy

Ilość materiału na 1 izolację: do 200 mg lub 200 µl próbki.

Zanim zaczniesz

1. Do buforu DPZ dodaj odpowiednią ilość 96-100% etanolu.
2. Przygotuj roztwór proteinazy K.
3. Nastaw łaźnie wodne, bloki grzejne lub termomiksery: jeden na 60°C, drugi na 70°C.
4. Podgrzej bufor do elucji DE do 60°C.
5. Jeżeli w buforze DLS1 wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 60°C przez 10 minut i mieszając.

PROTOKÓŁ

1. W 1,5 ml probówce z kulkami umieść do 200 mg próbki kału i połóż na lodzie. Jeśli próbka jest płynna, zastosuj 200 µl materiału.

2. Dodaj 300 µl buforu DLS1 i 20 µl proteinazy K. Zamknij probówkę i wymieszaj na worteksie przez 5 minut.

3. Inkubuj w 60°C przez 20 minut.

   Podczas inkubacji zworteksuj próbkę co 5 minut.

   ⇨ Jeżeli izolujesz DNA z zawartych w próbce bakterii gram (+), przeprowadź dodatkową inkubację w 95°C przez 5 minut.

4. Zwiruj krótko probówki, aby usunąć krople z wieczka.

5. Doprowadź próbkę do temperatury pokojowej.

6. Dodaj 100 µl buforu DLS2, zamknij wieczko i zworteksuj, a następnie inkubuj na lodzie przez 5 minut.

7. Wiruj przez 5 minut z prędkością 18.000 x g.

8. Przenieś supernatant do nowej 1,5 ml probówki (nie dostarczono). Wyrzuć probówkę z osadem.

9. Zworteksuj bufor DLS3, a następnie dodaj 200 µl tego buforu do próbki, zamknij wieczko. Zworteksuj próbkę i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.

   ⇨ Łatwiej pipetuje się bufor DLS3 tipsem 1ml z obciętą końcówką.

10. Wiruj przez 2 minut z prędkością 18.000 x g.

11. Przenieś do nowej, 1,5 ml probówki (nie dostarczono) 250 µl supernatantu. Wyrzuć probówkę z osadem.

    ⇨ Opcja: trawienie RNA. Jeżeli potrzebujesz DNA wolne od RNA, dodaj 1 µl RNazy A 100 mg/ml (nie dostarczono), zamknij wieczko i wymieszaj. Inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.

12. Zwiruj krótko probówki, aby usunąć krople z wieczka.

13. Dodaj 250 µl buforu DWS i 250 µl etanolu. Zamknij probówkę i wymieszaj pulsacyjnie na worteksie.

14. Umieść kolumienkę DS w probówce 2 ml (dostarczono). Przenieś całość materiału na kolumienkę DS. Zamknij wieczko.

15. Wiruj przez 1 minutę z prędkością 18.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś do nowej probówki 2 ml (dostarczono).

16. Dodaj do kolumienki 750 µl buforu DPZ, zamknij wieczko. Wiruj przez 1 minutę z prędkością 18.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.

17. Powtórz krok 16.

18. Wiruj kolumienkę przez 3 minuty z prędkością 18.000 x g.

19. Przenieś kolumienkę do nowej 1,5 ml probówki (dostarczono). Na środek membrany dodaj 50-200 µl uprzednio podgrzanego buforu do elucji DE i inkubuj w RT przez 2 minuty. Zamknij wieczko.

20. Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością (18.000 x g). Ostrożnie wysuń kolumienkę i zamknij probówkę z wyeluowanym DNA.

Producent

Syngen Biotech Sp. z o.o. Sp. k.
54-116 Wrocław, ul. Ostródzka 13
tel. 71 349 70 13, 71 349 91 66, 71 349 61 67, faks 71 349 70 33
kolumienki.pl, syngen.pl, info@syngen.pl