



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

Instrukcja

Blood Mini Plus

Zestaw o zwiększonej wydajności do izolacji genomowego DNA z krwi.

Wielkość próbek: do 1000 µl krwi świeżej lub mrożonej.

numer katalogowy	wielkość
022-50PN	50 izolacji
022-250PN	250 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:

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

Spis treści

Skład	3
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	3
Niezbędne	3
Przygotowanie kolumny	4
Przygotowanie materiału	4
Krew świeża lub mrożona (do 200 µl)	4
Krew świeża lub mrożona (200 µl - 1 ml)	4
Protokół izolacji	5
Informacje dodatkowe	6
Informacje bezpieczeństwa	7

Skład

składnik	022-50PN		022-250PN		przechowywanie
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	
minikolumny	50 szt.	K-K01-50	250 szt.	K-K01-250	15-25 °C
probówki 2 ml	100 szt.	K-PGR-100	500 szt.	K-PGR-500	15-25 °C
RA roztwór aktywujący	22 ml	K-RA-22	110 ml	K-RA-110	15-25 °C
RW roztwór wiążący	10 ml	K-RW-10	42 ml	K-RW-42	15-25 °C
LE roztwór do lizy erytrocytów	30 ml	K-LE-30	140 ml	K-LE-140	15-25 °C
BL bufor lizujący	12 ml	K-BL-12	55 ml	K-BL-55	15-25 °C
W10 roztwór płuczący	28 ml	K-W10-28	140 ml	K-W10-140	15-25 °C
W11 roztwór płuczący	50 ml	K-W11-50	250 ml	K-W11-250	15-25 °C
bufor Tris (10 mM, pH 8,5)	30 ml	K-TRIS-30	110 ml	K-TRIS-110	15-25 °C
Proteinaza K	1,1 ml	K-PRK-11A	5 x 1,1 ml	K-PRK-11A	2-8 °C*

* możliwość przechowywania w temp. 15-25 °C do 12 miesięcy

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 1,5 ml, 2 ml typu Eppendorf
- Termoblok
- Worteks
- Mikrowirówka

Przygotowanie kolumny

Przed przystąpieniem do izolacji należy aktywować kolumny.

1. Na kolumnę nanieść **400 µl** roztworu aktywującego **RA**.
2. Inkubować **5 min** w temp. pokojowej.
3. Wirować **1 min** przy **10 000-15 000 RPM**.
4. Usunąć przesącz.
5. Włożyć kolumnę do próbówki.

Przygotowanie materiału

Krew świeża lub mrożona (do 200 µl)

1. Przenieść **200 µl** krwi do próbówki 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
Informacja. W przypadku mniejszej ilości krwi niż 200 µl należy dodać buforu Tris do całkowitej objętości 200 µl.
2. Przejdź do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

Krew świeża lub mrożona (200 µl - 1 ml)

1. Przenieść odpowiednią ilość krwi do próbówki 2 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).
 Dodać roztwór **LE** stanowiący **połowę objętości** dodanej krwi, np. do 500 µl krwi dodać po **250 µl** roztworu **LE**.
2. Całość wymieszać przez odwracanie próbówki, do momentu aż roztwór z mętnego zmieni barwę na szkarłatnie przezroczysty.
Informacja. Zmiana barwy następuje w czasie ok. 3 minut.
3. Wirować przez **3 min** przy **10 000-15 000 RPM**.
4. Usunąć supernatant. Do osadu stanowiącego frakcję białych krwinek dodać po **200 µl** buforu **Tris** i wymieszać przez pipetowanie.
5. Przejdź do punktu 1. [protokołu izolacji](#).

W przypadku większych objętości krwi, zalecamy zastosowanie zestawów Genomic Midi AX ([nr kat. 895-20](#)) lub Genomic Maxi AX ([nr kat. 995-10](#)).

Protokół izolacji

1. Do przygotowanych próbek dodać po **200 µl** buforu lizującego **BL** oraz **20 µl** **Proteinazy K**.
2. Wymieszać przez worteksowanie **10 s** i inkubować przez **10 min** w temp. **50 °C**. Podczas inkubacji próbki kilkakrotnie mieszać przez worteksowanie lub odwracanie probówki.

Informacja. Inkubację można przeprowadzić w urządzeniu Thermomixer firmy Eppendorf lub jego odpowiedniku przy parametrach ciągłego mieszania 1400 RPM.
3. Dodać **150 µl** roztworu wiążącego **RW**.
4. Probki intensywnie worteksować przez **10 s**, następnie krótko zwirować celem usunięcia resztek materiału z wieczek probówek. Probki nanieść na wcześniej aktywowane minikolumny.
5. Wirować przez **1 min** przy **10 000 RPM**.
Uwaga. Jeśli lizat nie przepłynie przez kolumnę, zaleca się dodatkowe wirowanie przez 1 min przy maksymalnych obrotach.
6. Wyjąć minikolumny z probówek.
Wylać przesącz.
Przenieść minikolumny do **nowych** probówek 2 ml (w zestawie)
7. Dodać po **500 µl** roztworu płuczającego **W10**.
8. Wirować przez **1 min** przy **10 000 RPM**.
9. Wyjąć minikolumny z probówek.
Wylać przesącz.
Przenieść minikolumny do **nowych** probówek 2 ml (w zestawie).
10. Dodać po **500 µl** roztworu płuczającego **W11**. Wymieszać przez kilkakrotne odwracanie probówki.

Informacja. Mieszanie ma celu usunięcie resztek roztworu płuczającego z wewnętrznych ścianek kolumny.
11. Wirować przez **1 min** przy **10 000 RPM**.
12. Wyjąć minikolumny z probówek.

Wylać przesącz.

Osuszyć brzegi probówek z resztek roztworu płuczącego poprzez odwracanie probówki do góry dnem lekko dotykając o ręcznik papierowy.

Ponownie włożyć minikolumny do tych samych probówek.

13. Dodać po **400 µl** roztworu płuczącego **W11**.

14. Wirować przez **1 min** przy **10 000-15 000 RPM**.

15. Przenieść minikolumny do **nowych** probówek 1,5 ml typu Eppendorf (nie ma w zestawie).

16. Na złoża na dnie minikolumn nanieść po **100 µl** lub **200 µl** buforu **Tris**.

Informacja. W przypadku izolacji DNA ze 200 µl krwi, należy dodać po 100 µl buforu Tris. W przypadku izolacji DNA z większej objętości, należy dodać po 200 µl buforu Tris.

17. Inkubować próbki przez **2 min** w **temp. pokojowej**.

18. Wirować przez **1 min** przy **10 000-15 000 RPM**.

19. Usunąć minikolumny, a oczyszczone DNA znajdujące się w probówkach przechowywać w temp. +4 °C lub -20 °C do czasu dalszych analiz.

Informacje dodatkowe

W końcowym eluacie DNA mogą znajdować się śladowe ilości drobinek pochodzących z membrany kolumny. Drobinki nie mają wpływu na jakość wyizolowanego DNA. Mogą mieć jednak znaczenie przy odczytach spektrofotometrycznych (ODR 230/260). Z tego względu przed badaniem spektrofotometrycznym, zaleca się zwirowanie eluatu przez 1 min przy maksymalnych obrotach i pobranie do odczytu próbki z górnej warstwy zwirowanego roztworu.

Informacje bezpieczeństwa



NIEBEZPIECZEŃSTWO

Proteinaza K

H315 Działa drażniąco na skórę.
 H319 Działa drażniąco na oczy.
 H334 Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.
 H335 Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.
 P261 Unikać wdychania pyłu.
 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.
 P342+P311 W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.



UWAGA

BL bufor lizujący

H302 Działa szkodliwie po połknięciu.
 H315 Działa drażniąco na skórę.
 H319 Działa drażniąco na oczy.
 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

RW roztwór wiążący

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

W10 roztwór płuczący

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
 H302 Działa szkodliwie po połknięciu.
 H315 Działa drażniąco na skórę.
 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

W11 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.



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

wersja 2024-2

