

Instrukcja

ExToPCR™

Zestaw do szybkiej ekstrakcji DNA z różnych materiałów. Ekstrakt DNA może być wykorzystany do standardowej reakcji PCR lub real-time PCR.

numer katalogowy	wielkość
1032-100	100 reakcji
1032-500	500 reakcji

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 wchodzą w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu

Spis treści

Zalety	3
Specyfikacja	3
Opis	3
Skład	4
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	4
Niezbędne	4
Opcjonalne	4
Przygotowanie materiału	4
Protokół ekstrakcji	5
Rozwiązywanie problemów	6
Gęsty ekstrakt DNA	6
Inhibicja reakcji PCR	6
Informacje bezpieczeństwa	7

Zalety

- Szybka, 15-minutowa procedura.
- Ekstrakcja DNA jest przeprowadzana w jednej probówce, bez potrzeby wielokrotnych etapów płukania lub wirowania.

Specyfikacja

format	enzymatyczna ekstrakcja DNA
materiał	<ul style="list-style-type: none">• krew• tkanki FFPE• wymazy• cebulki włosów• tkanki zwierzęce• owady• pióra

Opis

ExToPCR™ składa się z odczynników do przygotowania ekstraktu zawierającego DNA.

Szybka, 15-minutowa procedura pozwala uzyskać DNA w ilości wystarczającej do przeprowadzenia reakcji PCR lub real-time PCR. Termostabilny enzym lityczny (**Enzym XTP**) umożliwi wydajną ekstrakcję DNA, oraz rozkłada nukleazy komórkowe. Ponadto bufor ekstrakcyjny (**Bufor XTP**) nie zawiera drażniących i szkodliwych substancji.

Uzyskany ekstrakt DNA może być wykorzystany do przeprowadzenia reakcji PCR lub Real-Time PCR z użyciem dowolnych odczynników. Jednak w celu uzyskania najlepszych wyników zalecamy następujące mieszaniny do PCR:

Standardowa reakcja PCR

- **PCR Mix Plus Green** - 2005-100Z, 2005-1000Z
- **PCR Mix Plus Red** - 2005-100P, 2005-1000P
- **PCR Mix Plus Clear** - 2005-100C, 2005-1000C
- **PCR Mix Plus HGC** - 2005-100G, 2005-1000G

Real-time PCR

- **RT PCR Mix EvaGreen** - 2008-100G, 2008-1000G
- **RT PCR Mix Probe** - 2008-200P, 2008-2000P
- **RT PCR Mix Sybr** - 2008-100, 2008-1000

Hot Start real-time PCR

- **RT HS-PCR Mix Probe** - 2017-200P, 2017-2000P
- **RT HS-PCR Mix Sybr** - 2017-100HS, 2017-1000HS
- **qPCR-HS Mix EvaGreen** - 2008HS-100G, 2008HS-1000G
- **qPCR-HS Mix Probe** - 2008HS-100P, 2008HS-1000P
- **qPCR-HS Mix Sybr** - 2008HS-100, 2008HS-1000

Skład

składnik	1032-100	1032-500	przechowywanie
Bufor XTP	10 ml	5 x 10 ml	-20 °C
Enzym XTP	500 µl	2 x 1,3 ml	-20 °C

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki PCR 0,2 ml
- Termoblok, termocykler lub łaźnia wodna

Opcjonalne

- Bufor TE lub Tris-HCl pH 8,0
- Probówki 1,5 ml

Przygotowanie materiału

materiał	przygotowanie
Krew	<ol style="list-style-type: none">1. Do probówki 0,2 ml dodać:<ul style="list-style-type: none">○ 5-10 µl krwi świeżej lub pobranej na EDTA.○ 85 µl buforu XTP○ 5 µl enzymu XTP2. Przejść do protokołu ekstrakcji.
Tkanki FFPE	<ol style="list-style-type: none">1. Usunąć nadmiar wosku.2. Do probówki 0,2 ml dodać:<ul style="list-style-type: none">○ 1 mm³ tkanki lub fragment 1-2 mm² z wycinka o grubości 10 µm○ 85 µl buforu XTP○ 5 µl enzymu XTP3. Przejść do protokołu ekstrakcji.
Wymazówki	<ol style="list-style-type: none">1. Obciąć końcówkę wymazówki i umieścić ją w probówce 1,5 ml i dodać:<ul style="list-style-type: none">○ 300 µl (dwukrotnie rozcieńczonego z wodą) buforu XTP○ 5 µl enzymu XTP2. Przejść do protokołu ekstrakcji.

Cebulki włosów	<ol style="list-style-type: none"> Do probówki 0,2 ml dodać: <ul style="list-style-type: none"> 1-10 cebulek włosa 85 µl buforu XTP 5 µl enzymu XTP Przejsć do <u>protokołu ekstrakcji</u>.
Tkanki zwierzęce	<ol style="list-style-type: none"> Do probówki 0,2 ml dodać: <ul style="list-style-type: none"> 2 mm³ fragment tkanki 85 µl Buforu XTP 5 µl Enzymu XTP Przejsć do <u>protokołu ekstrakcji</u>.
Owady	<ol style="list-style-type: none"> Umieścić owada lub jego fragment w probówce 1,5 ml. Dodać buforu XTP aby owad był w nim całkowicie zanurzony. Rozgnieść owada tipsem lub innym jałowym narzędziem. Dodać 5 µl enzymu XTP. Przejsć do <u>protokołu ekstrakcji</u>.
Pióra	<ol style="list-style-type: none"> Umieścić 2-5 mm fragment lotki pióra w probówce 0,2 ml i dodać: <ul style="list-style-type: none"> 100 µl buforu XTP 20 µl enzymu XTP Przejsć do <u>protokołu ekstrakcji</u>.

Protokół ekstrakcji

- Zamknąć probówkę z próbką.
- Inkubować w łaźni wodnej, termobloku lub termocyklerze przez **10 min** w temp. **50 °C**.
- Inkubować w łaźni wodnej, termobloku lub termocyklerze przez **5 min** w temp. **95 °C**.
- Pozostawić próbkę w **temp. pokojowej** do czasu ostygnięcia.

Uwaga: Jeżeli próbka materiału nie ulegnie całkowitemu rozpuszczeniu nie musisz usuwać jej z probówki. Pomimo obecności fragmentu próbki, obecne w ekstrakcie DNA jest zabezpieczone.

- Uzyskany ekstrakt DNA może być przechowywany przed przeprowadzeniem reakcji PCR do 1 miesiąca w temp. 4 °C.

Rozwiązywanie problemów

Gęsty ekstrakt DNA

Jeśli ekstrakt jest gęsty lub występuje problem z pipetowaniem, należy go krótko odwirować, a do reakcji PCR użyć supernatantu. Alternatywnie można go rozcieńczyć 1:5 – 10 buforem TE lub Tris-HCl pH 8,0.

Inhibicja reakcji PCR

Jeżeli reakcja PCR nie daje produktu lub jest on niespecyficzny to należy rozcieńczyć ekstrakt DNA 1:5–10 buforem TE lub Tris-HCl pH 8,0.

Informacje bezpieczeństwa



NIEBEZPIECZEŃSTWO

XTP enzymy

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.



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 2024-1

