



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

Instrukcja

Gel-Out Concentrator

Zestaw do izolacji DNA z żelu agarozowego. Elucja w małej objętości (od 15 µl).

numer katalogowy	wielkość
023-50C	50 izolacji
023-250C	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:

- 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
Dodatkowe informacje	3
Protokół izolacji	4
Informacje Bezpieczeństwa	6

Skład

składnik	50 izolacji	250 izolacji	przechowywanie
Mikrokolumny	50 szt.	250 szt.	15-25 °C
Probówki elucyjne 1,5 ml	50 szt.	250 szt.	15-25 °C
R7SI roztwór do rozpuszczania agarozy	30 ml	140 ml	15-25 °C
A1 roztwór płuczący	30 ml	140 ml	15-25 °C
Octan sodu (3M, pH 5,5)	500 µl	3 ml	15-25 °C
Izopropanol	15 ml	70 ml	15-25 °C
Tris bufor (10 mM, pH 8,5)	2 ml	9 ml	15-25 °C

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 1,5 ml typu Eppendorf
- Inkubator lub termoblok 50 °C (zalecany Thermomixer firmy Eppendorf)
- Worteks
- Mikrowirówka

Dodatkowe informacje

- Pojemność kolumny: do 10 µg DNA
- Zakres wielkości fragmentów DNA: 100 pz-10 000 pz
- Typowy odzysk DNA: 65-80%
- Objętość elucyjna: 15-30 µl

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 odpowiednią objętość roztworu **R7SI** do rozpuszczania agarozy:

<2% żel agarozowy - **400 μ l**

\geq 2% żel agarozowy - **500 μ l**

Całość inkubować w temp. **50 °C** do całkowitego rozpuszczenia agarozy. Podczas inkubacji próbki mieszać od czasu do czasu przez odwracanie probówek.

Roztwór R7SI do rozpuszczania agarozy zawiera barwny wskaźnik kontroli pH. Po inkubacji mieszanina próbki DNA z roztworem R7SI do rozpuszczania agarozy powinna być żółta - oznacza to optymalną wydajność wiązania DNA.

Barwa różowa wskazuje na zbyt wysokie pH roztworu. W takich warunkach oczyszczane DNA nieefektywnie wiąże się do złoza i może być utracone.

Zbyt wysokie pH może zostać skorygowane poprzez dodanie 1-10 μ l 3M roztworu octanu sodu (pH 5,5) (w zestawie). Oczyszczanie można kontynuować po osiągnięciu żółtej barwy.



optymalne warunki pH \leq 7,2



zbyt wysokie pH

3. Dodać odpowiednią objętość **izopropanolu**:

<2% żel agarozowy - **200 μ l**

\geq 2% żel agarozowy - **250 μ l**

Wymieszać przez odwracanie probówek.

4. Próbkę krótko zwirować w celu usunięcia resztek roztworu z wieczek i ścianek probówek.

5. Próbkę nanieść na mikrokolumny. Zamknąć mikrokolumny wieczkami od probówek.

6. Wirować **30-60 s** przy **10 000-15 000 RPM**.

7. Wyjąć mikrokolumny z probówek, wyłączyć przesącz. Włożyć mikrokolumny do **tych samych** probówek.

8. Dodać po **300 μ l** roztworu płuczącego **A1**. Zamknąć mikrokolumny wieczkami od probówek.

9. Wirować **30-60 s** przy **10 000-15 000 RPM**.

10. Dodać po **200 µl** roztworu płuczącego **A1**. Zamknąć mikrokolumny wieczkami od probówek.

11. Wirować **2 min** przy **10 000-15 000 RPM**.

12. Przenieść mikrokolumny do **nowych** probówek elucyjnych 1,5 ml (w zestawie).

13. Na złoża na dnie mikrokolumn nanieść po **15-30 µl** buforu **Tris**.
Zamknąć mikrokolumny wieczkami od probówek.

W momencie dodawania buforu Tris należy zwrócić uwagę, aby płyn całkowicie pokrył złożo. Powinno się go dodawać na środek mikrokolumny. Jeżeli część buforu Tris pozostanie na ściankach mikrokolumny, to elucja będzie mniej wydajna. Elucja mniejszą objętością jest mniej wydajna, ale uzyskane DNA ma wyższe stężenie. Elucja w 30 µl jest zalecana dla fragmentów >2000 pz.

14. Inkubować próbki przez **3 min** w **temp. pokojowej**.

15. Wirować **2 min** przy **10 000-15 000 RPM**.

16. Usunąć mikrokolumny, zamknąć probówki.
Oczyszczone DNA znajdujące się w probówkach przechowywać w temp. 4-8 °C do czasu dalszych analiz.

Probówka elucyjna połączona jest z wieczkiem długim, elastycznym łącznikiem. Zamykając probówkę, po usunięciu kolumny, należy zwrócić uwagę, aby zamykanie wieczka rozpocząć od strony łącznika. Kliknięcie świadczy o prawidłowym zamknięciu probówki. Inny sposób zamykania może spowodować samoczynne otwieranie probówki.

Informacje Bezpieczeństwa



UWAGA

R7SI roztwór do rozpuszczania agarozy

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

A1 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

Izopropanol

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 2023-1

