



**A&A BIOTECHNOLOGY**  
innovating life science

## *Instrukcja*

# Genomic Mini AX Bacteria+ Spin

Zestaw o zwiększonej wydajności do izolacji genomowego DNA z bakterii gram-dodatnich.

<b>numer katalogowy</b>	<b>wielkość</b>
060-100MS	100 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

<b>Skład</b>	<b>3</b>
<b>Dodatkowy sprzęt i odczynniki</b>	<b>3</b>
Niezbędne	3
Opcjonalne	3
<b>Ważne informacje</b>	<b>4</b>
<b>Protokół izolacji</b>	<b>4</b>
Zobojętnianie próbek DNA	6
Test funkcjonalności buforu E	6
<b>Informacje Bezpieczeństwa</b>	<b>7</b>

## Skład

składnik	100 izolacji	przechowywanie
<b>Kolumny Mini AX Spin</b>	100 szt.	2-8 °C
<b>Probówki 2 ml</b>	200 szt.	15-25 °C
<b>BS bufor do zawieszania</b>	25 ml	2-8 °C
<b>L1.4 roztwór lizujący</b>	25 ml	15-25 °C
<b>W1 pierwszy roztwór płuczący</b>	70 ml	15-25 °C
<b>W2 drugi roztwór płuczący</b>	60 ml	15-25 °C
<b>E bufor elucyjny</b> (nie zawiera EDTA)	20 ml	2-8 °C
<b>N bufor zobojętniający</b>	1 ml	15-25 °C
<b>T roztwór</b>	400 µl	2-8 °C
<b>Lizozym (50 mg/ml)</b>	1,1 ml	-20 °C
<b>Mutanolizyna</b>	550 µl	-20 °C
<b>Proteinaza K</b>	2 x 1,1 ml	2-8 °C

Pojemność kolumny do oczyszczania DNA wynosi 15 µg.

## Dodatkowy sprzęt i odczynniki

### Niezbędne

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

### Opcjonalne

- RNAza (nr kat. 1006-10, 1006-50)

## Ważne informacje

- Po użyciu buforu elucyjnego E należy zawsze szczelnie zakręcać pojemnik. Składniki buforu elucyjnego E ulegają rozkładowi przy długotrwałym kontakcie z powietrzem. Bufor elucyjny E należy zawsze przechowywać w temp. 2-8 °C.

## Protokół izolacji

- Zwirować **maksymalnie 1 ml** nocnej hodowli bakteryjnej. Usunąć supernatant. Osad bakteryjny zawiesić w **200 µl** buforu **BS** do zawieszania bakterii.
- Dodać po **10 µl lizozymu** i **5 µl mutanolizyny**.  
  
Synergizm działania mutanolizyny i lizozymu prowadzi do zwiększonej wydajności lizy komórek bakterii z rodzaju: *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Listeria*.  
  
Całość wymieszać i inkubować przez **20 min** w temp. **50 °C**
- Dodać po **200 µl** roztworu lizującego **L1.4** i **20 µl** **proteiny K**.
- Próbkę zworteksować i inkubować przez **10 min** w temp. **50 °C**. Podczas inkubacji próbkę należy kilkakrotnie worteksować.  
  
Inkubację można przeprowadzić w urządzeniu Thermomixer firmy Eppendorf lub jego odpowiedniku przy parametrach ciągłego mieszania 1400 RPM.  
  
**Opcjonalne usuwanie RNA:** do próbki należy dodać po 5 µl RNAzy (10 mg/ml) (nie ma w zestawie). Całość wymieszać i pozostawić próbkę na 5 min w temp. pokojowej.
- Po inkubacji próbkę intensywnie worteksować przez **20 s** przy **1000-1400 RPM**.  
  
Ten krok jest kluczowy dla wydajności izolacji DNA.
- Próbkę wirować przez **10 s** przy **8 000-14 000 x g**.  
  
Na dnie próbki powinny znajdować się zwarte osady stanowiące mieszaninę niezlizowanego materiału.
- Nanieść supernatant na kolumnę Mini AX Spin znajdującą się w 2 ml próbówce.
- Wirować przez **30-60 s** przy **8 000-14 000 x g**.
- Wyjąć kolumnę Mini AX Spin z próbki i umieścić ją w **nowej** próbówce **2 ml** (w zestawie).
- Nanieść po **600 µl** pierwszego roztworu płuczącego **W1**.

Wirować przez **30-60 s** przy **8 000-14 000 x g**.

11. Wyjąć kolumnę Mini AX Spin z próbówki i umieścić ją w **nowej** próbówce **2 ml** (w zestawie).

12. Nanieść po **500 µl** drugiego roztworu płuczącego **W2**.  
Wirować przez **30-60 s** przy **14 000-21 000 x g**.

13. Przygotować próbówki elucyjne (nie ma w zestawie). Mogą to być jałowe próbówki 1,5 ml typu Eppendorf.  
Dodać na dno próbówki elucyjnej po **5 µl** buforu zobojętniającego **N**.

Zobojętnianie próbek DNA - str. 6.

14. Przenieść kolumnę Mini AX Spin do przygotowanej próbówki elucyjnej.

15. Przed użyciem buforu elucyjnego E zalecamy przeprowadzenie testu funkcjonalności - str. 6.

Nanieść po **100-150 µl** buforu elucyjnego **E** na kolumnę Mini AX Spin.  
Zostawić na **2 min** w **temp. pokojowej**.

Po użyciu buforu elucyjnego E należy zawsze szczelnie zakręcać pojemnik. Składniki buforu elucyjnego E ulegają rozkładowi przy długotrwałym kontakcie z powietrzem. Bufor elucyjny E należy zawsze przechowywać w temp. od 2-8 °C.

16. Wirować przez **30-60 s** przy **14 000-21 000 x g**.

17. Usunąć kolumnę Mini AX Spin i zamknąć próbówkę elucyjną zawierającą DNA.

## Zobojętnianie próbek DNA

Bufor elucyjny E jest silnie alkaliczny i po zamrożeniu może powodować degradację DNA. Z tego powodu konieczne jest stosowanie buforu zobojętniającego N. Z naszej praktyki laboratoryjnej wynika, że najwygodniej jest dodać bufor zobojętniający N przed elucją DNA, do pustej probówki elucyjnej.

W trakcie elucji, zawieszony w buforze elucyjnym DNA wymiesza się z buforem zobojętniającym N i ulegnie natychmiastowej neutralizacji. Będzie zawieszony w roztworze 10 mM Tris pH 8,5.

Jeżeli bufor zobojętniający N nie został dodany przed elucją DNA, to można dodać go po zakończonej izolacji - przed zamrożeniem próbek DNA.

## Test funkcjonalności buforu E

Bufor elucyjny E ma kluczowy wpływ na wydajność elucji DNA. Jego prawidłowe działanie można sprawdzić za pomocą roztworu T wchodzącego w skład zestawu.

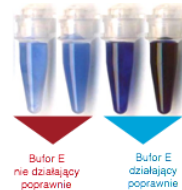
### Kiedy przeprowadzić test funkcjonalności:

- Bufor E nie był używany przez min. 2 miesiące.
- Bufor E był przechowywany w temp. pokojowej przez min. 2 tygodnie.
- Fiolka zawierająca bufor E nie została szczelnie zamknięta po użyciu.

### Test funkcjonalności:

Przenieść 20 µl buforu E do probówki PCR; dodać po 2 µl roztworu T; całość wymieszać, poczekać 2 min.

Porównać kolor mieszaniny ze zdjęciem przedstawiającym kolory referencyjne.



# 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**

## L1.4 roztwór 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**

## W1 pierwszy 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**

## E bufor elucyjny

H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.  
 P280 Stosować rękawice ochronne/ odzież ochronną/ ochronę oczu/ ochronę twarzy.  
 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.  
 P310 Natychmiast 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 2023-1

