



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

Instrukcja

Gel-Out AX

Zestaw o zwiększonej wydajności do izolacji DNA z agarozy niskotopliwej (low melting point).
Procedura z precypitacją DNA.

numer katalogowy	wielkość
024-50	50 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
Opcjonalne	3
Dodatkowe informacje	3
Protokół izolacji	4
Informacje Bezpieczeństwa	6

Skład

składnik	50 izolacji	przechowywanie
Kolumny Spin 10AX	50 szt.	2-8 °C
Probówki 2 ml	50 szt.	15-25 °C
LPD roztwór do rozpuszczania agarozy	30 ml	15-25 °C
K2 roztwór płuczący	55 ml	15-25 °C
K4 roztwór elucyjny	30 ml	15-25 °C
PM mieszanina precipitacyjna	25 ml	15-25 °C
TE bufor	5 ml	15-25 °C

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

Niezbędne

- Probówki 1,5 ml typu Eppendorf
- 70% etanol
- Inkubator lub termoblok 60 °C (zalecany Thermomixer firmy Eppendorf)
- Worteks
- Mikrowirówka

Opcjonalne

- Woda jałowa (nr kat. 003-075, 003-25)
- Bufor Tris (10 mM, pH 8,0) (nr kat. 202-50, 202-150)

Dodatkowe informacje

- Pojemność kolumny: do 10 µg DNA
- Zakres wielkości fragmentów DNA: 100 pz-20 000 pz

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 po **500 µl** roztworu **LPD** do rozpuszczania agarozy. Wymieszać próbki.
3. Inkubować w temp. **60 °C** do całkowitego rozpuszczenia agarozy (zwykle trwa to ok. 5-10 min). Podczas inkubacji próbki mieszać od czasu do czasu przez odwracanie probówek.
4. Po rozpuszczeniu agarozy, próbki pozostawić na **3 min** w **temp. pokojowej**.
5. Próbkę nanieść na kolumny Spin 10AX.
6. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.
7. Wyjąć kolumny Spin 10AX z probówek, wyłączyć przesącz. Włożyć kolumny Spin 10AX do **tych samych** probówek.
8. Dodać po **500 µl** roztworu płuczającego **K2**.
9. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.
10. Wyjąć kolumny Spin 10AX z probówek, wyłączyć przesącz. Włożyć kolumny Spin 10AX do **tych samych** probówek.
11. Dodać po **500 µl** roztworu płuczającego **K2**.
12. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.
13. Przenieść kolumny Spin 10AX do **nowych** probówek 2 ml (w zestawie).
14. Dodać po **250 µl** roztworu elucyjnego **K4**. Próbkę pozostawić na **2 min** w **temp. pokojowej**.
15. Wirować **30 s** przy **5000 RPM**.

16. Dodać po **250 µl** roztworu elucyjnego **K4**. Próbki pozostawić na **2 min** w **temp. pokojowej**.
17. **Wirować 30 s** przy **5000 RPM**. Usunąć kolumny Spin 10AX.
18. Mieszanina precipitacyjna PM zawiera wzmacniacz precipitacji, dlatego przed użyciem mieszaniny PM należy ją wymieszać poprzez kilkakrotne odwracanie butelki.

Do przesączu zawierającego DNA dodać po **400 µl** mieszaniny precipitacyjnej **PM**.
19. Wymieszać przez kilkakrotne odwracanie probówek.
Wirować 10 min przy **12 000 RPM**.
20. Usunąć supernatant, uważając aby nie usunąć niebieskich osadów DNA.

Na dnie probówki powinien być widoczny jasnoniebieski osad DNA. Niebieska barwa osadu umożliwia śledzenie procesu rozpuszczania DNA.
21. Dodać po **500 µl 70% etanolu** (nie ma w zestawie). Wymieszać.
Wirować 3 min przy minimum **12 000 RPM**.
22. Usunąć supernatant. Osady DNA suszyć przez odwrócenie probówek przez **5 min** w **temp. pokojowej**.

Jeżeli na ściankach probówki znajdują się resztki alkoholu, należy je osuszyć kawałkiem jałowej waty (doskonale nadają się do tego patyczki higieniczne lub pałeczki do pobierania wymazów).
23. Osady zawiesić w buforze **TE** lub wodzie jałowej wolnej od nukleaz (nie ma w zestawie) albo buforze Tris (nie ma w zestawie).

Niebieska barwa osadu umożliwia śledzenie procesu rozpuszczania DNA.
24. Oczyszczone DNA znajdujące się w probówkach przechowywać w temp. 4-8°C do czasu dalszych analiz.

Informacje Bezpieczeństwa



NIEBEZPIECZEŃSTWO

K2 roztwór płuczący

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
H319 Działa drażniąco na oczy.
H336 Może wywoływać uczucie sennaści 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

K4 roztwór elucyjny

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
H319 Działa drażniąco na oczy.
H336 Może wywoływać uczucie sennaści 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

PM mieszanina precypitacyjna

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
H319 Działa drażniąco na oczy.
H336 Może wywoływać uczucie sennaści 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

