

Syngen Soil DNA Mini Kit

Zawartość opakowania i warunki przechowywania

| Syngen Soil DNA Mini Kit | zestaw demo | SY281010 | SY281011 |
|--------------------------|-------------|-----------|------------|
| Liczba izolacji | 4 | 50 | 100 |
| Bufor DLS1 | 1,8 ml x2 | 40 ml | 70 ml |
| Bufor DLS2 | 1,2 ml | 15 ml | 25 ml |
| Bufor DLS3 | 1,2 ml | 15 ml | 30 ml |
| Bufor DWS | 1,5 ml | 25 ml | 40 ml |
| Bufor DPZ | 1,5 ml | 20 ml | 40 ml |
| Bufor DE | 1,5 ml | 25 ml | 50 ml |
| Kolumienki DS | 4 szt. | 50 szt. | 100 szt. |
| Kulki szklane | 1 g | 12 g | 25 g |
| Probówki 2 ml | 8 szt. | 100 szt. | 200 szt. |
| Probówki 1,5 ml | 4 szt. | 50 szt. | 100 szt. |
| Probówki do kulek | 4 szt. | 50 szt. | 100 szt. |

Kolumienki DS, a także wszystkie roztwory powinny być przechowywane w temperaturze pokojowej (15-25°C).

Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem

- Etanol (96-100%)
- Izopropanol
- Probówki 1.5 ml i 2 ml (eppendorfki)
- Statyw
- Sterylne końcówki do pipet (najlepiej z filtrem)
- Pipety automatyczne nastawne
- Mikrowirówka
- Worteks
- Dwie łaźnie wodne, bloki grzejne lub termomiksery (jeden na 60°C, drugi na 70°C)
- Dodatkowy blok grzejny lub łaźnia na 95°C – jeżeli izolujesz DNA z bakterii gram (+)
- Pokruszony lód

Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem

Bufor płuczący

Bufor płuczący DPZ jest dostarczany jako koncentrat. Przed pierwszym użyciem dodaj do niego odpowiednią ilość etanolu (96-100%) i starannie wymieszaj. Poniższa tabela przedstawia sposób przygotowania buforu płuczącego.

| Syngen Soil DNA Mini Kit | zestaw demo | SY281010 | SY281011 |
|--|-------------|-----------|------------|
| Liczba izolacji | 4 | 50 | 100 |
| Objętość etanolu, jaką należy dodać do koncentratu buforu płuczącego DPZ | 6 ml | 80 ml | 160 ml |

Bufor DPZ po dodaniu etanolu powinien być szczelnie zamknięty i przechowywany w temperaturze pokojowej. Przed rozpoczęciem procedury zawsze wymieszaj rozpuszczony bufor przez obrócenie butelki kilka razy.

Materiał wyjściowy

Ilość materiału na 1 izolację: 0,25-0,5 g próbki gleby.

Zanim zaczniesz

1. Do buforu DPZ dodaj odpowiednią ilość 96-100% etanolu.
2. Nastaw łaźnie wodne, bloki grzejne lub termomiksery: jeden na 60°C, drugi na 70°C. Jeżeli izolujesz DNA z bakterii gram (+) przygotuj dodatkowy blok grzejny lub łaźnię i ustaw na 95°C.
3. Podgrzej bufor do elucji DE do 60°C.
4. Jeżeli w buforze DLS1 wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 60°C przez 10 minut i mieszając.

PROTOKÓŁ

1. W próbówce do kulek 2 ml (dostarczono) umieść 200 mg kulek szklanych, a następnie 0,25-0,5 g próbki gleby (jeśli próbka jest płynna zastosuj 200 µl materiału). Probówkę umieść na lodzie.
2. Dodaj 600 µl buforu DLS1. Zamknij probówkę i wymieszaj na worteksie przez 5 minut.
3. Inkubuj w 70°C przez 10 minut.
Podczas inkubacji zworteksuj próbkę co 5 minut.
⇒ Jeżeli izolujesz DNA z zawartych w próbce bakterii gram (+), przeprowadź dodatkową inkubację w 95°C przez 5 minut.
4. Zwiruj krótko probówkę, aby usunąć krople z wieczka.
5. Doprowadź próbkę do temperatury pokojowej.
6. Dodaj 200 µl buforu DLS2, zamknij wieczko i zworteksuj, a następnie inkubuj na lodzie przez 5 minut.
7. Wiruj przez 5 minut z prędkością 18.000 x g.
8. Przenieś supernatant do nowej 1,5 ml próbówki (nie dostarczono). Oszacuj objętość supernatantu. Wyrzuć probówkę z osadem.
9. Dodaj tyle samo izopropanolu ile supernatantu znajduje się w próbówce. Zamknij wieczko i zworteksuj.
10. Wiruj przez 10 minut z prędkością 18.000 x g.
11. Ostrożnie wylej supernatant uważając na pelet i umieść probówkę na 1 minutę wieczkiem do dołu na ręczniku papierowym, aby usunąć pozostały roztwór.

12. Do próbki z osadem dodaj 200 μ l uprzednio podgrzanego buforu do elucji DE lub ddH₂O, zworteksuj, aby pelet cały się rozpuścił.
13. Zworteksuj bufor DLS3, a następnie dodaj 100 μ l tego buforu do próbki, zamknij wieczko. Zworteksuj próbkę i inkubuj przez 3 minuty w temperaturze pokojowej.

⇒ łatwiej pipetuje się bufor DLS3 tipsem 1ml z obciętą końcówką.
14. Wiruj przez 2 minut z prędkością 18.000 x g.
15. Przenieś supernatant do nowej, 1,5 ml próbki (nie dostarczono). Oszacuj objętość supernatantu. Wyrzuć próbkę z osadem.

⇒ Opcja: trawienie RNA. Jeżeli potrzebujesz DNA wolne od RNA, dodaj 1 μ l RNazy A 100 mg/ml (nie dostarczono), zamknij wieczko i wymieszaj. Inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.
16. Zwiruj krótko próbkę, aby usunąć krople z wieczka.
17. Dodaj tyle samo buforu DWS oraz etanolu ile supernatantu znajduje się w próbce (np. mając 200 μ l supernatantu dodaj 200 μ l buforu DWS i 200 μ l etanolu). Zamknij próbkę i wymieszaj pulsacyjnie na worteksie.
18. Umieść kolumienkę DS w próbce 2 ml (dostarczono). Przenieś całość materiału na kolumienkę DS. Zamknij wieczko.
19. Wiruj przez 1 minutę z prędkością 18.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś do nowej próbki z ml (dostarczono).
20. Dodaj do kolumienki 750 μ l buforu DPZ, zamknij wieczko. Wiruj przez 1 minutę z prędkością 18.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do próbki.
21. Powtórz krok 20.
22. Wiruj kolumienkę przez 3 minuty z prędkością 18.000 x g.
23. Przenieś kolumienkę do nowej 1,5 ml próbki (dostarczono). Na środek membrany dodaj 50-200 μ l uprzednio podgrzanego buforu do elucji DE i inkubuj w RT przez 2 minuty. Zamknij wieczko.
24. Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością (18.000 x g). Ostrożnie wysuń kolumienkę i zamknij próbkę z wyluowanym DNA.

Producent

Syngen Biotech Sp. z o.o. Sp. k.
54-116 Wrocław, ul. Ostródzka 13
tel. 71 349 70 13, 71 349 91 66, 71 349 61 67, faks 71 349 70 33
kolumienki.pl, syngen.pl, info@syngen.pl

