

Syngen DNA clean-up Kit

Zawartość opakowania i warunki przechowywania

Syngen DNA clean-up Kit	zestaw demo	SY231010	SY231011
Liczba izolacji	4	50	200
Bufor CWD	3 ml	30 ml	120 ml
Bufor CP	1 ml	10 ml	40 ml
Bufor CE	1,5 ml	15 ml	50 ml
Kolumienki CD	4 szt.	50 szt.	200 szt.
Probówki 2 ml	4 szt.	50 szt.	200 szt.
Probówki 1,5 ml	4 szt.	50 szt.	200 szt.

Kolumienki CD, 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%)
- Probówki 1.5 ml i 2 ml (eppendorfki)
- Statyw
- Sterylne końcówki do pipet (najlepiej z filtrem)
- Pipety automatyczne nastawne
- Mikrowirówka
- Wortex
- łaźnia wodna, blok grzejny lub termomikser na 65°C

Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem

Bufor płuczący

Bufor płuczący CP 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 DNA clean-up Mini Kit	zestaw demo	SY231010	SY231011
Liczba izolacji	4	50	200
Objętość etanolu, jaką należy dodać do koncentratu buforu płuczącego CP	4 ml	40 ml	160 ml

Bufor CP 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: maksymalnie 50 µg gDNA w maksymalnie 100 µl roztworu.

Specyfikacja

Wydajność: 80-95%
 Objętość elucji: 50-200 µl
 Złoże wiąże do 50 µg gDNA
 Czas wykonania procedury: do 15 minut

Zanim zaczniesz

1. Do buforu CP dodaj odpowiednią ilość 96-100% etanolu.
2. Nastaw łaźnię wodną, blok grzejny lub termomikser na 65°C.
3. Podgrzej bufor do elucji CE do 65°C.
4. Jeżeli w jakimś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 50°C przez kilka minut, mieszając, a następnie ostudź.

PROTOKÓŁ

1. W 1,5 ml probówce umieść próbkę gDNA i dodaj 500 µl buforu CWD. Zamknij probówkę i wymieszaj na wortexie. Zwiruj krótko probówkę, aby usunąć krople z wieczka.
2. Umieść kolumienkę CD w probówce 2 ml (dostarczono). Przenieś całość roztworu na kolumienkę CD. Zamknij wieczko.
3. Wiruj przez 1 minutę z prędkością 10.000 x g (lub 14.000 rpm). Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.
4. Dodaj do kolumienki 750 µl buforu płuczącego CP, zamknij wieczko. Wiruj przez 1 minutę z prędkością 10.000 x g (lub 14.000 rpm). Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.
5. Wiruj kolumienkę przez 3 minuty z prędkością 18.000 x g, aby wysuszyć membranę.
6. Przenieś kolumienkę do nowej 1,5 ml probówki (dostarczono). Na środek membrany dodaj 50-200 µl uprzednio podgrzanego buforu do elucji CE i inkubuj w RT przez 2 minuty. Zamknij wieczko.
7. Wiruj przez 1 minutę z prędkością 10.000 x g. Ostrożnie wysuń kolumienkę i zamknij probówkę z wyelouowanym DNA.

Samodzielne rozwiązywanie problemów

1. Zbyt mały odzysk gDNA lub brak odzysku:
 - a) Jeśli zastosowano więcej niż 100 µl próbki lub wyższe stężenie niż zalecane, podziel próbkę i oczyszczaj oddzielnie.
 - b) Jeśli stosujesz elucję wodną, a nie buforem CE, upewnij się, że woda ma pH 7,0-8,5.

- c) Upewnij się, że bufor CE został podgrzany do 65°C i że wsiąknął w membranę przed inkubacją.
2. Słabe wyniki w dalszych reakcjach:
 - a) Powtórz płukanie kolumny buforem CP w kroku 4, aby efektywniej odmyć sole.
 - b) Upewnij się, że po dosuszaniu membrany w kroku 5, w roku kolumnienki nie został żaden płyn. Etanol zawarty w buforze płuczącym CP jest inhibitorem reakcji.

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
kolumnienki.pl, syngen.pl, info@syngen.pl

