syngen.pl kolumienki.pl

# Syngen Food DNA Mini Kit

### Zawartość opakowania i warunki przechowywania

| Syngen Food DNA Mini Kit | zestaw demo | SY246010 |
|---|---|---|
| **Liczba izolacji** | **4** | **50** |
| Bufor DLF | 42 ml | 250 ml x3 |
| Bufor DWF | 5 ml | 60 ml |
| Bufor DPF | 1 ml | 15 ml |
| Bufor DE | 1 ml | 15 ml |
| Kolumienki DF | 4 szt. | 50 szt. |
| Probówki 2 ml | 8 szt. | 100 szt. |
| Proteinaza K | 1,1 mg x4 | 11 mg x5 |

Kolumienki DF, a także wszystkie roztwory poza rozpuszczoną proteinazą K, powinny być przechowywane w temperaturze pokojowej (15-25°C), chyba że na butelce określono inaczej.

Proteinazę K po rozpuszczeniu należy przechowywać w 4°C.

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

Do wszystkich protokołów:
- Etanol (96-100%)
- Probówki 1.5 ml i 2 ml (eppendorfki)
- Statyw
- Sterylne końcówki do pipet (najlepiej z filtrem)
- Pipety automatyczne nastawne
- Mikrowirówka
- Worteks
- Łaźnia wodna, blok grzejny lub termomikser na 60°C
- Homogenizator
- Chloroform
- Pokruszony lód

Do izolacji DNA z 2g materiału wyjściowego:
- Probówki 50 ml
- Wirówka z rotorem na probówki 50 ml

### Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem

Proteinaza K

Proteinaza K jest dostarczana w postaci liofilizowanej. Aby przygotować porcję roztworu roboczego, probówkę zawierającą liofilizat proteinazy K należy krótko zwirować, dodać

- 110 ul wody destylowanej (czystości do PCR) – do probówki z 1,1 mg
- 1,1 ml wody destylowanej (czystości do PCR) – do probówki z 11 mg

Następnie zamknąć probówkę i dokładnie wymieszać, aż do całkowitego rozpuszczenia. Po rozpuszczeniu roztwór roboczy proteinazy K należy przechowywać w temperaturze 4°C.

Bufor płuczący

Bufor płuczący DPF 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 Food DNA Mini Kit | zestaw demo | SY246010 |
|---|---|---|
| **Liczba izolacji** | **4** | **50** |
| Objętość etanolu, jaką należy dodać do koncentratu buforu płuczącego DPF | 4 ml | 60 ml |

Bufor DPF 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: 300 mg lub 2g próbki żywności.

### Zanim zaczniesz

1. Przy pomocy homogenizatora rozgnieć próbkę żywności do uzyskania jednorodnego proszku.
2. Do buforu DPF dodaj odpowiednią ilość 96-100% etanolu.
3. Przygotuj roztwór proteinazy K.
4. Nastaw łaźnię wodną, blok grzejny lub termomikser na 60°C.
5. Podgrzej bufor do elucji do 60°C.
6. Jeżeli w buforze DLF wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 60°C przez kilka minut i mieszając.

### PROTOKÓŁ 1
### IZOLACJA DNA Z 300 mg PRÓBKI ŻYWNOŚCI

1. W 2 ml probówce umieść 300 mg zhomogenizowanej próbki i dodaj 1,5 ml buforu DLF. Zamknij probówkę i wymieszaj na worteksie.

2. Dodaj 45 µl proteinazy K, zamknij probówkę i zmieszaj na worteksie, a następnie inkubuj w 60°C przez 30 minut.

   Podczas inkubacji zworteksuj próbkę 2-3 krotnie.

3. Inkubuj próbkę przez 5 minut na lodzie.

4. Wiruj przez 5 minut z prędkością 2.500 x g.

5. Przenieś 700 µl supernatantu do nowej 2 ml probówki.

   W niektórych próbkach żywności mogą się utworzyć 3 fazy. W takim wypadku przenieś 700 µl fazy środkowej do nowej 2 ml probówki.

6. Dodaj 500 µl chloroformu, zamknij i zworteksuj przez 15 sekund.

7. Wiruj przez 15 minut z prędkością 14.000 x g.

8. Przenieś do nowej, 2 ml probówki 350 µl górnej fazy, dodaj 350 µl buforu DWF. Zamknij wieczko, wymieszaj na worteksie przez 10 sek. i zwiruj.

9. Umieść kolumienkę DF w probówce 2 ml (dostarczono). Przenieś całość materiału na kolumienkę DF. Zamknij wieczko.

10. Wiruj przez 30 sekund z prędkością 11.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.

11. Dodaj do kolumienki 600 µl buforu DPF, zamknij wieczko. Wiruj przez 30 sekund z prędkością 18.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.

12. Powtórz krok 11.

13. Wiruj kolumienkę przez 3 minuty z prędkością 18.000 x g.

14. Przenieś kolumienkę do nowej 1,5 ml probówki. Na środek membrany dodaj 100-200 µl uprzednio podgrzanego buforu do elucji DE i inkubuj w RT przez 1 minutę. Zamknij wieczko.

15. Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością (18.000 x g).

**PROTOKÓŁ 2**
**IZOLACJA DNA Z 2 g PRÓBKI ŻYWNOŚCI**

1. W 50 ml probówce umieść 2 g zhomogenizowanej próbki i dodaj 10 ml buforu DLF. Zamknij probówkę i wymieszaj na worteksie.

   ⇨ Jeśli po zworteksowaniu ilość buforu do lizy będzie za mała należy dodać kolejne 10 ml I wymieszać.

2. Dodaj 100 µl proteinazy K, zamknij probówkę i zmieszaj na worteksie, a następnie inkubuj w 60°C przez 30 minut.

   Podczas inkubacji zworteksuj próbkę 2-3 krotnie.

3. Inkubuj próbkę przez 5 minut na lodzie.

4. Wiruj przez 5 minut z prędkością 2.500 x g.

5. Przenieś 700 µl supernatantu do nowej 2 ml probówki.

   W niektórych próbkach żywności mogą się utworzyć 3 fazy. W takim wypadku przenieś 700 µl fazy środkowej do nowej 2 ml probówki.

6. Dodaj 500 µl chloroformu, zamknij i zworteksuj przez 15 sekund.

7. Wiruj przez 15 minut z prędkością 14.000 x g.

8. Przenieś do nowej, 2 ml probówki 350 µl górnej fazy, dodaj 350 µl buforu DWF. Zamknij wieczko, wymieszaj na worteksie przez 10 sek. i zwiruj.

9. Umieść kolumienkę DF w probówce 2 ml (dostarczono). Przenieś całość materiału na kolumienkę DF. Zamknij wieczko.

10. Wiruj przez 30 sekund z prędkością 11.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.

11. Dodaj do kolumienki 600 µl buforu DPF, zamknij wieczko. Wiruj przez 30 sekund z prędkością 18.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.

12. Powtórz krok 11.

13. Wiruj kolumienkę przez 3 minuty z prędkością 18.000 x g.

14. Przenieś kolumienkę do nowej 1,5 ml probówki. Na środek membrany dodaj 100-200 µl uprzednio podgrzanego buforu do elucji DE i inkubuj w RT przez 1 minutę. Zamknij wieczko.

15. Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością (18.000 x g).

**PROTOKÓŁ 3**
**IZOLACJA KRÓTKICH FRAGMENTÓW DNA Z 300 mg PRÓBKI ŻYWNOŚCI**

1. W 2 ml probówce umieść 300 mg zhomogenizowanej próbki i dodaj 1,5 ml buforu DLF. Zamknij probówkę i wymieszaj na worteksie.

2. Dodaj 45 µl proteinazy K, zamknij probówkę i zmieszaj na worteksie, a następnie inkubuj w 60°C przez 30 minut.

   Podczas inkubacji zworteksuj próbkę 2-3 krotnie.

3. Inkubuj próbkę przez 5 minut na lodzie.

4. Wiruj przez 5 minut z prędkością 2.500 x g.

5. Przenieś 700 µl supernatantu do nowej 2 ml probówki.

   W niektórych próbkach żywności mogą się utworzyć 3 fazy. W takim wypadku przenieś 700 µl fazy środkowej do nowej 2 ml probówki.

6. Dodaj 500 µl chloroformu, zamknij i zworteksuj przez 15 sekund.

7. Wiruj przez 15 minut z prędkością 14.000 x g.

8. Przenieś do nowej, 2 ml probówki 350 µl górnej fazy, dodaj 1 ml buforu DWF. Zamknij wieczko, wymieszaj na worteksie przez 10 sek. i zwiruj.

9. Umieść kolumienkę DF w probówce 2 ml (dostarczono).

10. Przenieś max. 750 µl próbki na kolumienkę DF. Zamknij wieczko. Wiruj przez 30 sekund z prędkością 11.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.

11. Powtórz punkt 10 dodając do kolumienki DF pozostają część próbki z punktu 8.

12. Dodaj do kolumienki 600 µl buforu DPF, zamknij wieczko. Wiruj przez 30 sekund z prędkością 18.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.

13. Powtórz krok 12.

14. Wiruj kolumienkę przez 3 minuty z prędkością 18.000 x g.

15. Przenieś kolumienkę do nowej 1,5 ml probówki. Na środek membrany dodaj 100-200 µl uprzednio podgrzanego buforu do elucji DE i inkubuj w RT przez 1 minutę. Zamknij wieczko.

16. Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością (18.000 x g).

**PROTOKÓŁ 4**
**IZOLACJA KRÓTKICH FRAGMENTÓW DNA Z 2 g PRÓBKI ŻYWNOŚCI**

1. W 50 ml probówce umieść 2 g zhomogenizowanej próbki i dodaj 10 ml buforu DLF. Zamknij probówkę i wymieszaj na worteksie.

   ⇨ Jeśli po zworteksowaniu ilość buforu do lizy będzie za mała należy dodać kolejne 10 ml I wymieszać.

2. Dodaj 100 µl proteinazy K, zamknij probówkę i zmieszaj na worteksie, a następnie inkubuj w 60°C przez 30 minut.

   Podczas inkubacji zworteksuj próbkę 2-3 krotnie.

3. Inkubuj próbkę przez 5 minut na lodzie.

4. Wiruj przez 5 minut z prędkością 2.500 x g.

5. Przenieś 700 µl supernatantu do nowej 2 ml probówki.

   W niektórych próbkach żywności mogą się utworzyć 3 fazy. W takim wypadku przenieś 700 µl fazy środkowej do nowej 2 ml probówki.

6. Dodaj 500 µl chloroformu, zamknij i zworteksuj przez 15 sekund.

7. Wiruj przez 15 minut z prędkością 14.000 x g.

8. Przenieś do nowej, 2 ml probówki 350 µl górnej fazy, dodaj 1 ml buforu DWF. Zamknij wieczko, wymieszaj na worteksie przez 10 sek. i zwiruj.

9. Umieść kolumienkę DF w probówce 2 ml (dostarczono).

10. Przenieś max. 750 µl próbki na kolumienkę DF. Zamknij wieczko. Wiruj przez 30 sekund z prędkością 11.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.

11. Powtórz punkt 10 dodając do kolumienki DF pozostają część próbki z punktu 8.

12. Dodaj do kolumienki 600 µl buforu DPF, zamknij wieczko. Wiruj przez 30 sekund z prędkością 18.000 x g. Odrzuć supernatant, a kolumienkę przenieś z powrotem do probówki.

13. Powtórz krok 12.

14. Wiruj kolumienkę przez 3 minuty z prędkością 18.000 x g.

15. Przenieś kolumienkę do nowej 1,5 ml probówki. Na środek membrany dodaj 100-200 µl uprzednio podgrzanego buforu do elucji DE i inkubuj w RT przez 1 minutę. Zamknij wieczko.

16. Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością (18.000 x g).

**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