

Syngen Gel/PCR Mini Kit

Syngen Gel/PCR ME Mini Kit

Zestawy do oczyszczania DNA:

- z żelu agarozowego
- po reakcji PCR i innych reakcjach enzymatycznych
- z żelu agarozowego z małą objętością elucji
- po reakcji PCR i innych reakcjach enzymatycznych z małą objętością elucji

Instrukcja dla użytkownika, w. 2021-01

Spis treści

Informacje wstępne	3
Ograniczenia	3
Zawartość zestawów	4
Przechowywanie	5
Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem	5
Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem	6
Materiał wyjściowy i wydajność DNA	7
Ogólne wytyczne dotyczące obsługi zestawów Syngen	9
Elucja DNA	10
Protokoły dla zestawu Syngen Gel Mini Kit	
Protokół 1: Izolacja DNA ze żelu agarozowego	11
Protokoły dla zestawu Syngen PCR Mini Kit	
Protokół 2: Oczyszczanie DNA po reakcji enzymatycznej	14
Protokoły dla zestawu Syngen Gel/PCR Mini Kit	
Protokół 3: Izolacja DNA ze żelu agarozowego	16
Protokół 4: Oczyszczanie DNA po reakcji enzymatycznej	20
Protokoły dla zestawu Syngen Gel ME Mini Kit	
Protokół 5: Izolacja DNA ze żelu agarozowego	23
Protokoły dla zestawu Syngen PCR ME Mini Kit	
Protokół 6: Oczyszczanie DNA po reakcji enzymatycznej	26
Protokoły dla zestawu Syngen Gel/PCR ME Mini Kit	
Protokół 7: Izolacja DNA ze żelu agarozowego	29
Protokół 8: Oczyszczanie DNA po reakcji enzymatycznej	32
Samodzielne rozwiązywanie problemów	35
Przewodnik po zestawach serii Syngen®	40

Dziękujemy za wybór zestawu serii Syngen DNA i okazane nam zaufanie. Produkty serii Syngen DNA to wysokiej jakości zestawy odczynników do izolacji całkowitego DNA z szerokiej gamy próbek takich jak tkanki, komórki, krew, płyny ustrojowe i inne. Zastosowana technologia wykorzystuje technikę chromatografii na złożu krzemionkowym zamkniętym w membranie kolumnienki. Uzyskany DNA odznacza się wysoką czystością, wymaganą do zastosowań między innymi w technikach real-time PCR i microarray.

Niniejsza instrukcja dla użytkownika zawiera szczegółowe wytyczne dotyczące stosowania zestawów Syngen Gel, Syngen PCR, Syngen Gel/PCR, Syngen Gel ME, Syngen PCR ME i Syngen Gel/PCR ME. Rozdziały wstępne pomogą użytkownikowi przygotować się do wykonania procedur opisanych w dalszych rozdziałach. Zalecamy uważne przeczytanie całej instrukcji przed przystąpieniem do pracy.

Przy użyciu produktu powinna być zachowana uwaga i ostrożność. Zalecamy użytkownikom stosowanie się do zasad GLP (Dobrej Praktyki Laboratoryjnej), a także do zasad prowadzenia eksperymentów z rekombinowanym DNA. Między innymi należy stosować fartuch laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe i okulary ochronne.

Aby uzyskać więcej informacji o substancjach niebezpiecznych, które mogą być zawarte w niektórych składnikach zestawów, prosimy przeczytać Karty Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych (MSDS) dostępne u producenta.

W przypadku pytań pozostajemy do Państwa dyspozycji. Życzymy sukcesów w pracy z zestawami Syngen.

Zespół Syngen Biotech

Ograniczenia

Zestawy serii Syngen DNA są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego. Nie będą uwzględniane żadne roszczenia wynikające z użycia zestawu do diagnozowania lub leczenia chorób.

Zawartość zestawów

Syngen GEL Mini Kit	SY201210	SY201211
Liczba izolacji	50	200
Kolumnienki CG	50	200
Bufor lizujący CWG	50 ml	200 ml
Bufor płuczający CP – koncentrat	15 ml	45 ml
Probówki do płukania 2 ml	50	200
Bufor elucyjny CE	5 ml	20 ml
Probówki elucyjne 1.5 ml	50	200

Syngen PCR Mini Kit	SY201110	SY201111
Liczba izolacji	50	200
Kolumnienki CP	50	200
Bufor lizujący CWP	30 ml	110 ml
Bufor płuczający CP – koncentrat	12,5 ml	45 ml
Probówki do płukania 2 ml	50	200
Bufor elucyjny CE	5 ml	20 ml
Probówki elucyjne 1.5 ml	50	200

Syngen GEL/PCR Mini Kit	SY201010	SY201011
Liczba izolacji	100	300
Kolumnienki CGP	100	300
Bufor lizujący CWGP	80 ml	240 ml
Bufor płuczający CP – koncentrat	25 ml	50 ml
Probówki do płukania 2 ml	100	300
Bufor elucyjny CE	6 ml	30 ml

Syngen GEL ME Mini Kit	SY201410	SY201411
Liczba izolacji	50	200
Kolumnienki MG	50	200
Bufor lizujący MWG	65 ml	260 ml
Bufor płuczający MP – koncentrat	12,5 ml	35 ml
Probówki do płukania 2 ml	50	200
Bufor elucyjny ME	5 ml	5 ml

Syngen PCR ME Mini Kit	SY201310	SY201311
Liczba izolacji	50	200
Kolumienki MP	50	200
Bufor lizujący MWP	30 ml	115 ml
Bufor płuczający MP – koncentrat	12,5 ml	35 ml
Probówki do płukania 2 ml	50	200
Bufor elucyjny ME	5 ml	20 ml

Syngen GEL/PCR ME Mini Kit	SY201510	SY201511
Liczba izolacji	50	100
Kolumienki MGP	50	100
Bufor lizujący MWGP	30 ml	60 ml
Bufor płuczający MP – koncentrat	12,5 ml	20 ml
Probówki do płukania 2 ml	50	100
Bufor elucyjny ME	5 ml	5 ml

Dostarczona objętość poszczególnych buforów może być większa od podanej w tabeli. Poszczególne bufony mogą być konfekcjonowane inaczej, niż podano w tabeli.

Przechowywanie

Kolumienki i wszystkie roztwory powinny być przechowywane w temperaturze pokojowej (15-25°C), chyba że na butelce określono inaczej.

Przechowywanie kolumienek w temperaturze wyższej niż 25°C jest kategorięcznie zabronione.

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

Do wszystkich protokołów:

- Etanol (96-100%)
- Probówki 1.5 ml (eppendorfki)
- Statyw
- Sterylne końcówki do pipet (najlepiej z filtrem)
- Pipety automatyczne nastawne
- Mikrowirówka na 14.000 rpm / 10.000 x g
- Worteks

Do izolacji DNA z żelu:

- Skalpel lub narzędzia do wycinania prążka z żelu
- Łaźnia wodna, blok grzejny lub termomikser (polecany) na 55°C

Do izolacji fragmentów DNA dłuższych niż 5000 pz:

- Łaźnia wodna lub blok grzejny na 60°C

Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem

Bufor płuczący

Bufory płuczące CP i MP są dostarczane jako koncentraty. Przed pierwszym użyciem należy do nich dodać odpowiednią ilość etanolu 96-100% (zgodnie ze wskazaniem na butelce) i starannie wymieszać.

Bufory CP i MP po dodaniu etanolu powinny być szczelnie zamknięte i przechowywane w temperaturze pokojowej. Przed rozpoczęciem procedury zawsze wymieszaj rozpuszczone bufory przez obrócenie butelki kilka razy.

Materiał wyjściowy i wydajność DNA

Zestawy Syngen GEL Mini Kit i Syngen GEL ME Mini Kit służą do oczyszczania DNA z żelu agarozowego. Najczęściej wycina się z żelu jeden interesujący nas prążek po rozdziale elektroforetycznym. Należy zostawić jak najmniejsze marginesy żelu wokół wycinanego fragmentu.

Zestawy Syngen PCR Mini Kit i Syngen PCR ME Mini Kit służą do oczyszczania produktu reakcji PCR lub innych reakcji enzymatycznych, jak np. analiza restrykcyjna lub trawienie RNazą. Materiał po oczyszczeniu jest wolny od enzymów, ulega oczyszczeniu z niewykorzystanych nukleotydów, a także usunięty zostaje bufor reakcyjny.

Zestawy Syngen GEL/PCR Mini Kit i Syngen GEL/PCR ME Mini Kit służą zarówno do izolacji DNA z żelu agarozowego, jak i do oczyszczania produktu reakcjach enzymatycznych.

Wyizolowany DNA ma wysoki stopień czystości, dzięki czemu może być użyty bezpośrednio do dalszych analiz, jak reakcje enzymatyczne z detekcją w czasie rzeczywistym, mikromacierze i inne procedury wymagające DNA wysokiej jakości.

Poniższa tabela określa typowe wydajności DNA oraz zalecane maksymalne ilości poszczególnych rodzajów próbek, których nie należy przekraczać.

Syngen GEL Mini Kit

Materiał wyjściowy	Maksymalna ilość na 1 izolację	Typowa wydajność DNA
Prążek wycięty z żelu	200 mg	70-85%

Syngen PCR Mini Kit

Materiał wyjściowy	Maksymalna ilość na 1 izolację	Typowa wydajność DNA
Reakcja enzymatyczna	100 ul	80-95%

Syngen GEL/PCR Mini Kit

Materiał wyjściowy	Maksymalna ilość na 1 izolację	Typowa wydajność DNA
Prążek wycięty z żelu	200 mg	70-85%
Reakcja enzymatyczna	100 ul	90-95%

Syngen GEL ME Mini Kit

Materiał wyjściowy	Maksymalna ilość na 1 izolację	Typowa wydajność DNA
Prążek wycięty z żelu	200 mg	80-90%

Syngen PCR ME Mini Kit

Materiał wyjściowy	Maksymalna ilość na 1 izolację	Typowa wydajność DNA
Reakcja enzymatyczna	100 ul	80-90%

Syngen GEL/PCR ME Mini Kit

Materiał wyjściowy	Maksymalna ilość na 1 izolację	Typowa wydajność DNA
Prążek wycięty z żelu	200 mg / 5 ug	80-90%
Reakcja enzymatyczna	100 ul / 5 ug	80-90%

Próbki o objętości mniejszej niż maksymalna dozwolona nie muszą być dopełniane ani rozcieńczane.

Próbki bardzo rozcieńczone, których objętość jest większa niż zalecana w danym protokole, można również wykorzystać w całości. W tym celu należy proporcjonalnie zwiększyć objętość pozostałych używanych buforów i reagentów we wszystkich krokach, aż do etapu nakładania na kolumnę. Nakładanie na kolumnę lizatów o większej objętości należy wykonać w kilku porcjach, usuwając przesącz i nakładając kolejną porcję, aż do przesączenia przez kolumnę całej próbki.

Ogólne wytyczne dotyczące obsługi zestawów Syngen DNA

Kolumnienki Mini pasują do większości probówek wirówkowych o pojemności 1.5 ml lub 2 ml (tzw. eppendorfek).

Wszystkie wirowania wykonywane są z pełną prędkością (ok. 14.000 rpm lub 10.000 x g), aczkolwiek możliwe jest zastosowanie niższych prędkości (8000 rpm lub 6000 x g), gdy użytkownik nie posiada szybszej wirówki lub przeszkadza mu hałas – w takim przypadku należy proporcjonalnie wydłużyć wirowanie. Zaleca się jednak, aby przynajmniej wszystkie drugie kroki płukania, kroki dosuszania membrany oraz elucja odbywały się przy najwyższych obrotach wirówki. Wszystkie wirowania należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej, chyba że w protokole zaznaczono inaczej.

Podczas obsługi zestawów Syngen zalecamy, aby ograniczać dotykanie membran w kolumnienkach końcówką pipety, przed wirowaniem zamykać wieczka kolumnienek i probówek, a z wirówki kolumnienki wyjmować razem z probówkami – dopiero po ustawieniu w statywie można wyjąć kolumnienkę z probówki. Ponadto, dla ograniczenia kontaminacji pomiędzy próbkami (cross-contamination), zalecamy aby utrzymywać w czystości rękawiczki ochronne, używać końcówek do pipet z filtrem i po każdym worteksowaniu lub mieszaniu zwirowywać probówki, aby usunąć krople ze spodu wieczek.

Elucja DNA

W zestawach Syngen GEL, Syngen PCR i Syngen GEL/PCR Mini Kit typowa objętość elucji wynosi 40 ul i jest wystarczająca dla zdecydowanej większości próbek.

W zestawach Syngen GEL ME, Syngen PCR ME i Syngen GEL/PCR ME Mini Kit typowa objętość elucji wynosi 10 ul i pozwala na uzyskanie ok. 8-9 ul eluatu.

Elucję z kolumny można wykonywać dostarczonym buforem do elucji lub wodą destylowaną o pH=7.0-8.5. Woda o innym pH może znacznie ograniczyć wydajność elucji, lub nawet uniemożliwić ją. Zalecamy stosowanie dostarczonego buforu elucyjnego.

Nie należy eluować DNA zimnym buforem lub wodą. Bufor do elucji (lub woda) powinien być doprowadzony co najmniej do temperatury pokojowej (15-25°C). W celu zwiększenia rozpuszczalności DNA można stosować bufor elucyjny ogrzany do 60°C (opcjonalnie).

Jeśli oczyszczany produkt jest dłuższy niż 5.000 pz, zalecamy zastosowanie elucji na ciepło. W tym celu podgrzewa się bufor elucyjny CE lub ME do temperatury 60°C, a po nakropieniu go na membranę, przed wirowaniem inkubuje się zamkniętą kolumnkę w temperaturze od 37°C do 60°C przez 2-4 minuty.

Jeśli produkt oczyszczania ma wysokie stężenie i użytkownikowi zależy na odzyskaniu całego DNA z kolumny, zalecamy drugą elucję do oddzielnej probówki przy pomocy drugiej porcji buforu. W niektórych przypadkach w pierwszej elucji uzyskuje się 60% DNA, w drugiej – 40%.

W przypadku próbek ubogich w DNA, aby zatężyć otrzymany materiał, zalecamy stosowanie zestawów oznaczonych ME.

Do przypadku przechowywania wyizolowanego DNA do 4 tygodni, wystarczą warunki chłodnicze 2-8°C. Do długoterminowego przechowywania wyizolowanego DNA zalecamy temperaturę -20°C.

Protokół 1 **do zestawu Syngen GEL Mini Kit**

Izolacja DNA z żelu agarozowego

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu Syngen GEL Mini Kit, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.
- Upewnij się, że przygotowałeś wszystkie potrzebne odczynniki i sprzęty opisane w rozdziale „Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem”.
- Upewnij się, że bufony płuczące zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem”.
- Jeżeli w którymś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 37°C przez kilka minut i mieszając.
- Doprowadź wszystkie bufony do temperatury pokojowej (15-25°C).
- Nastaw łaźnię wodną, blok grzejny lub termomikser na 55°C.
- Doprowadź próbki do temperatury pokojowej lub wyższej.

Procedura

1. W eppendorfke (nie dostarczono) umieść fragment żelu z DNA o masie do 200mg. Usuń marginesy żelu niezawierające DNA. Dodaj 3-krotnie większą objętość buforu lizującego CWG, zamknij i zmieszaj na worteksie (na każde 100 mg żelu dodaj ~300 ul buforu CWG). Inkubuj w temperaturze 55°C przez 10-15 minut, aż do całkowitego rozpuszczenia żelu. Zmieszaj na worteksie co 3 minuty.

Jeśli używasz agarozy o stężeniu przekraczającym 2%, należy dodatkowo podwoić objętość buforu CWG.

Zamiast okresowego mieszania można zastosować termomikser (zalecana opcja).

Jeśli żel nie rozpuści się całkowicie, należy przedłużyć inkubację z mieszaniem.

2. Doprowadź probówkę do temperatury pokojowej (15-25°C). Zwiruj krótko probówkę, aby usunąć krople z wieczka.
3. Umieść kolumnkę CG w probówce 2 ml do płukania. Przenieś całą zawartość probówki z kroku 2 na kolumnkę. Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością. Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

Jeśli objętość lizatu w punkcie 2 jest większa niż 800 ul, przenieś na kolumnę tylko 800 ul na raz, wiruj, usuń przesącz (nie wyrzucaj probówki) i powtarzaj, aż do nałożenia całego lizatu na kolumnę.

4. Otwórz kolumnkę, dodaj 750 ul buforu płuczającego CP. Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością. Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.
5. Wiruj przez 3 minuty z maksymalną prędkością, aby wysuszyć membranę i pozbyć się resztek buforów zawierających etanol.

Upewnij się, że w rogu kolumnki nie został żaden płyn.

6. Przenieś kolumnkę do probówki elucyjnej 1,5 ml i wyrzuć starą probówkę 2 ml.

Ostrożnie, nie dotykając membrany, dodaj na sam środek membrany 40 μ l buforu do elucji CE lub wody o $\text{pH}=7,0-8,5$.

Zamknij wieczko i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.

Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.

Sposób elucji może być inny. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

Warunki inkubacji mogą być inne. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

7. Ostrożnie usuń kolumnkę i zamknij wieczko w probówce z wyizolowanym DNA.

Nie wyrzucaj kolumnki do czasu określenia stężenia wyizolowanego DNA. Jak w przypadku każdej metody chromatograficznej, niewłaściwe pH wody użytej do elucji może wyraźnie zmniejszyć wydajność elucji, a nawet uniemożliwić ją, powodując pozostanie DNA na kolumnie.

Przy pomiarze stężenia DNA metodami spektrofotometrycznymi, stosuj bufor użyty do elucji jako próbę ślełą (blank).

W przypadku małej wydajności elucji należy zapoznać się z rozdziałem „Elucja DNA”.

Wyizolowany DNA można przechowywać w temperaturze $2-8^{\circ}\text{C}$ do 4 tygodni, lub w -20°C przez dłuższy czas.

Protokół 2 **do zestawu Syngen PCR Mini Kit**

Oczyszczanie DNA po reakcjach enzymatycznych

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu Syngen PCR Mini Kit, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.
- Upewnij się, że przygotowałeś wszystkie potrzebne odczynniki i sprzęty opisane w rozdziale „Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem”.
- Upewnij się, że buforzy płuczące zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem”.
- Jeżeli w którymś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 37°C przez kilka minut i mieszając.
- Doprowadź wszystkie buforzy do temperatury pokojowej (15-25°C).
- Doprowadź próbki do temperatury pokojowej (15-25°C).

Procedura

1. Do eppendorfki (nie dostarczono) dodaj 10-100 ul mieszaniny po reakcji enzymatycznej, np. PCR.
Dodaj 5-krotnie większą objętość buforu lizującego CWP, zamknij i zmieszaj na wortexie.
Zwiruj krótko probówki, aby usunąć krople z wieczka.

Jeśli stosowano olej zamiast pokrywy grzejnej, zwróć uwagę, aby nie przenieść oleju.

2. Umieść kolumnkę CP w probówce 2 ml do płukania.
Przenieś całą zawartość probówki z kroku 1 na kolumnkę.
Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.
Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

Jeśli objętość lizatu w punkcie 1 jest większa niż 800 ul, przenieś na kolumnę tylko 800 ul na raz, wiruj, usuń przesącz (nie wyrzucaj probówki) i powtarzaj, aż do nałożenia całego lizatu na kolumnę.

3. Otwórz kolumnkę, dodaj 750 ul buforu płuczącego CP.
Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.
Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.
4. Wiruj przez 3 minuty z maksymalną prędkością, aby wysuszyć membranę i pozbyć się resztek buforów zawierających etanol.

Upewnij się, że w rogu kolumnki nie został żaden płyn.

5. Przenieś kolumnkę do probówki elucyjnej 1,5 ml i wyrzuć starą probówkę 2 ml.
Ostrożnie, nie dotykając membrany, dodaj na sam środek membrany 40 ul buforu do elucji CE lub wody o pH=7,0-8,5.
Zamknij wieczko i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.
Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.

Sposób elucji może być inny. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

Warunki inkubacji mogą być inne. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

6. Ostrożnie usuń kolumnkę i zamknij wieczko w probówce z wyizolowanym DNA.

Nie wyrzucaj kolumnki do czasu określenia stężenia wyizolowanego DNA. Jak w przypadku każdej metody chromatograficznej, niewłaściwe pH wody użytej do elucji może wyraźnie zmniejszyć wydajność elucji, a nawet uniemożliwić ją, powodując pozostanie DNA na kolumnie.

Przy pomiarze stężenia DNA metodami spektrofotometrycznymi, stosuj bufor użyty do elucji jako próbę ślepa (blank).

W przypadku małej wydajności elucji należy zapoznać się z rozdziałem „Elucja DNA”.

Wyizolowany DNA można przechowywać w temperaturze 2-8°C do 4 tygodni, lub w -20°C przez dłuższy czas.

Protokół 3

do zestawu Syngen GEL/PCR Mini Kit

Izolacja DNA z żelu agarozowego

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu Syngen GEL/PCR Mini Kit, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.
- Upewnij się, że przygotowałeś wszystkie potrzebne odczynniki i sprzęty opisane w rozdziale „Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem”.
- Upewnij się, że buforzy płuczące zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem”.
- Jeżeli w którymś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 37°C przez kilka minut i mieszając.
- Doprowadź wszystkie buforzy do temperatury pokojowej (15-25°C).
- Nastaw łaźnię wodną, blok grzejny lub termomikser na 55°C.
- Doprowadź próbki do temperatury pokojowej lub wyższej.

Procedura

1. W eppendorfke (nie dostarczono) umieść fragment żelu z DNA o masie do 200mg. Usuń marginesy żelu niezawierające DNA. Dodaj 600 ul buforu lizującego CWGP, zamknij i zmieszaj na wortexie.
Inkubuj w temperaturze 55°C przez 10-15 minut, aż do całkowitego rozpuszczenia żelu. Zmieszaj na wortexie co 3 minuty.

Jeśli używasz agarozy o stężeniu przekraczającym 2%, zastosuj 1000 ul buforu CWGP.

Zamiast okresowego mieszania można zastosować termomikser (zalecamy takie rozwiązanie).

Jeśli żel nie rozpuści się całkowicie, należy przedłużyć inkubację z mieszaniem.

2. Doprowadź probówkę do temperatury pokojowej (15-25°C).
Zwiruj krótko probówkę, aby usunąć krople z wieczka.
3. Umieść kolumnkę CGP w probówce 2 ml do płukania.
Przenieś maksymalnie 800 ul lizatu z kroku 5 na kolumnkę.
Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.
Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

Jeśli objętość lizatu w punkcie 2 była większa niż 750 ul, usuń przesącz (nie wyrzucaj probówki) i powtarzaj, aż do nałożenia całego lizatu na kolumnę.

4. Otwórz kolumnkę, dodaj 750 ul buforu płuczającego CP.
Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.
Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.
5. Wiruj przez 3 minuty z maksymalną prędkością, aby wysuszyć membranę i pozbyć się resztek buforów zawierających etanol.

Upewnij się, że w rogu kolumnki nie został żaden płyn.

6. Przenieś kolumnkę do probówki elucyjnej 1,5 ml (nie dostarczono) i wyrzuć starą probówkę 2 ml.
Ostrożnie, nie dotykając membrany, dodaj na sam środek membrany 40 ul buforu do elucji CE lub wody o pH=7,0-8,5.
Zamknij wieczko i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.
Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.

Sposób elucji może być inny. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

Warunki inkubacji mogą być inne. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

7. Ostrożnie usuń kolumnkę i zamknij wieczko w probówce z wyizolowanym DNA.

Nie wyrzucaj kolumnki do czasu określenia stężenia wyizolowanego DNA. Jak w przypadku każdej metody chromatograficznej, niewłaściwe pH wody użytej do elucji może wyraźnie zmniejszyć wydajność elucji, a nawet uniemożliwić ją, powodując pozostanie DNA na kolumnie.

Przy pomiarze stężenia DNA metodami spektrofotometrycznymi, stosuj bufor użyty do elucji jako próbę ślepą (blank).

W przypadku małej wydajności elucji należy zapoznać się z rozdziałem „Elucja DNA”.

Wyizolowany DNA można przechowywać w temperaturze 2-8°C do 4 tygodni, lub w -20°C przez dłuższy czas.

Protokół 4 **do zestawu Syngen GEL/PCR Mini Kit**

Oczyszczanie DNA po reakcjach enzymatycznych

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu Syngen GEL/PCR Mini Kit, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.
- Upewnij się, że przygotowałeś wszystkie potrzebne odczynniki i sprzęty opisane w rozdziale „Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem”.
- Upewnij się, że buforzy płuczące zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem”.
- Jeżeli w którymś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 37°C przez kilka minut i mieszając.
- Doprowadź wszystkie buforzy do temperatury pokojowej (15-25°C).
- Doprowadź próbki do temperatury pokojowej (15-25°C).

Procedura

1. Do eppendorfki (nie dostarczono) dodaj 10-100 ul mieszaniny po reakcji enzymatycznej, np. PCR.
Dodaj 5-krotnie większą objętość buforu lizującego CWGP, zamknij i zmieszaj na wortexie.
Zwiruj krótko probówki, aby usunąć krople z wieczka.

Jeśli stosowano olej zamiast pokrywy grzejnej, zwróć uwagę, aby nie przenieść oleju.

2. Umieść kolumnkę CGP w probówce 2 ml do płukania.
Przenieś całą zawartość probówki z kroku 1 na kolumnkę.
Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.
Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

Jeśli objętość lizatu w punkcie 1 jest większa niż 800 ul, przenieś na kolumnę tylko 800 ul na raz, wiruj, usuń przesącz (nie wyrzucaj probówki) i powtarzaj, aż do nałożenia całego lizatu na kolumnę.

3. Otwórz kolumnkę, dodaj 750 ul buforu płuczącego CP.
Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.
Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

4. Wiruj przez 3 minuty z maksymalną prędkością, aby wysuszyć membranę i pozbyć się resztek buforów zawierających etanol.

Upewnij się, że w rogu kolumnki nie został żaden płyn.

5. Przenieś kolumnkę do probówki elucyjnej 1,5 ml i wyrzuć starą probówkę 2 ml.
Ostrożnie, nie dotykając membrany, dodaj na sam środek membrany 40 ul buforu do elucji CE lub wody o pH=7,0-8,5.
Zamknij wieczko i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.
Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.

Sposób elucji może być inny. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

Warunki inkubacji mogą być inne. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

6. Ostrożnie usuń kolumnkę i zamknij wieczko w probówce z wyizolowanym DNA.

Nie wyrzucaj kolumnki do czasu określenia stężenia wyizolowanego DNA. Jak w przypadku każdej metody chromatograficznej, niewłaściwe pH wody użytej do elucji może wyraźnie zmniejszyć wydajność elucji, a nawet uniemożliwić ją, powodując pozostanie DNA na kolumnie.

Przy pomiarze stężenia DNA metodami spektrofotometrycznymi, stosuj bufor użyty do elucji jako próbę ślełą (blank).

W przypadku małej wydajności elucji należy zapoznać się z rozdziałem „Elucja DNA”.

Wyizolowany DNA można przechowywać w temperaturze 2-8°C do 4 tygodni, lub w -20°C przez dłuższy czas.

Protokół 5

do zestawu Syngen GEL ME Mini Kit

Izolacja DNA z żelu agarozowego

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu Syngen GEL ME Mini Kit, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.
- Upewnij się, że przygotowałeś wszystkie potrzebne odczynniki i sprzęty opisane w rozdziale „Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem”.
- Upewnij się, że buforzy płuczące zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem”.
- Jeżeli w którymś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 37°C przez kilka minut i mieszając.
- Doprowadź wszystkie buforzy do temperatury pokojowej (15-25°C).
- Nastaw łaźnię wodną, blok grzejny lub termomikser na 55°C.
- Doprowadź próbki do temperatury pokojowej lub wyższej.

Procedura

1. W eppendorfke (nie dostarczono) umieść fragment żelu z DNA o masie do 200mg. Usuń marginesy żelu niezawierające DNA. Dodaj 3-krotnie większą objętość buforu lizującego MWG, zamknij i zmieszaj na wortexie (na każde 100 mg żelu dodaj 300 ul buforu MWG).

Inkubuj w temperaturze 55°C przez 10-15 minut, aż do całkowitego rozpuszczenia żelu. Zmieszaj na wortexie co 3 minuty.

Zwiruj krótko probówki, aby usunąć krople z wieczka.

Jeśli używasz agarozy o stężeniu przekraczającym 2%, należy dodatkowo podwoić objętość buforu MWG.

Zamiast okresowego mieszania można zastosować termomikser (zalecana opcja).

Jeśli żel nie rozpuści się całkowicie, należy przedłużyć inkubację z mieszaniem.

2. Dodaj 1 objętość izopropanolu, zamknij i zmieszaj na wortexie (na każde 100 mg użytego żelu dodaj 100 ul izopropanolu). Nie wiruj.

3. Umieść kolumnkę MG w probówce 2 ml do płukania. Przenieś nie więcej niż 600 ul mieszaniny na kolumnkę. Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością. Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

Jeśli objętość lizatu w punkcie 2 była większa niż 600 ul, usuń przesącz (nie wyrzucaj probówki) i powtarzaj, aż do nałożenia całego lizatu na kolumnę.

4. Otwórz kolumnkę, dodaj 600 ul buforu płuczającego MP. Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością. Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

5. Wiruj przez 3 minuty z maksymalną prędkością, aby wysuszyć membranę i pozbyć się resztek buforów zawierających etanol.

Upewnij się, że w rogu kolumnki nie został żaden płyn.

6. Przenieś kolumnkę do probówki elucyjnej 1,5 ml (nie dostarczono) i wyrzuć starą probówkę 2 ml.
Ostrożnie, nie dotykając membrany, dodaj na sam środek membrany 10-12 ul buforu elucyjnego ME lub wody o pH=7,0-8,5. Zamknij wieczko i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.
Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.

Sposób elucji może być inny. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

Warunki inkubacji mogą być inne. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

7. Ostrożnie usuń kolumnkę i zamknij wieczko w probówce z wyizolowanym DNA.

Nie wyrzucaj kolumnki do czasu określenia stężenia wyizolowanego DNA. Jak w przypadku każdej metody chromatograficznej, niewłaściwe pH wody użytej do elucji może wyraźnie zmniejszyć wydajność elucji, a nawet uniemożliwić ją, powodując pozostanie DNA na kolumnie.

Przy pomiarze stężenia DNA metodami spektrofotometrycznymi, stosuj bufor użyty do elucji jako próbę ślełą (blank).

W przypadku małej wydajności elucji należy zapoznać się z rozdziałem „Elucja DNA”.

Wyizolowany DNA można przechowywać w temperaturze 2-8°C do 4 tygodni, lub w -20°C przez dłuższy czas.

Protokół 6 **do zestawu Syngen PCR ME Mini Kit**

Oczyszczanie DNA po reakcjach enzymatycznych

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu Syngen PCR ME Mini Kit, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.
- Upewnij się, że przygotowałeś wszystkie potrzebne odczynniki i sprzęty opisane w rozdziale „Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem”.
- Upewnij się, że bufony płuczące zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem”.
- Jeżeli w którymś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 37°C przez kilka minut i mieszając.
- Doprowadź wszystkie bufony do temperatury pokojowej (15-25°C).
- Doprowadź próbki do temperatury pokojowej (15-25°C).

Procedura

1. Do eppendorfki (nie dostarczono) dodaj 10-100 ul mieszaniny po reakcji enzymatycznej, np. PCR.
Dodaj 5-krotnie większą objętość buforu lizującego MWP, zamknij i zmieszaj na wortexie.
Zwiruj krótko probówki, aby usunąć krople z wieczka.

Jeśli stosowano olej zamiast pokrywy grzejnej, zwróć uwagę, aby nie przenieść oleju.

2. Umieść kolumnkę MP w probówce 2 ml do płukania.
Przenieś całą zawartość probówki z kroku 3 na kolumnkę.
Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.
Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

Jeśli objętość lizatu w punkcie 3 jest większa niż 600 ul, przenieś na kolumnę tylko 600 ul.

Jeśli objętość lizatu w punkcie 3 była większa niż 600 ul, usuń przesącz (nie wyrzucaj probówki) i wróć do kroku 5. Powtarzaj, aż do nałożenia całego lizatu na kolumnę.

3. Otwórz kolumnkę, dodaj 600 ul buforu płuczającego MP.
Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.
Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

4. Wiruj przez 3 minuty z maksymalną prędkością, aby wysuszyć membranę i pozbyć się resztek buforów zawierających etanol.

Upewnij się, że w rogu kolumnki nie został żaden płyn.

5. Przenieś kolumnkę do probówki elucyjnej 1,5 ml (nie dostarczono) i wyrzuć starą probówkę 2 ml.
Ostrożnie, nie dotykając membrany, dodaj na sam środek membrany 10-12 ul buforu elucyjnego ME lub wody o pH=7,0-8,5.
Zamknij wieczko i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.
Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.

Sposób elucji może być inny. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

Warunki inkubacji mogą być inne. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

6. Ostrożnie usuń kolumnkę i zamknij wieczko w probówce z wyizolowanym DNA.

Nie wyrzucaj kolumnki do czasu określenia stężenia wyizolowanego DNA. Jak w przypadku każdej metody chromatograficznej, niewłaściwe pH wody użytej do elucji może wyraźnie zmniejszyć wydajność elucji, a nawet uniemożliwić ją, powodując pozostanie DNA na kolumnie.

Przy pomiarze stężenia DNA metodami spektrofotometrycznymi, stosuj bufor użyty do elucji jako próbę ślepa (blank).

W przypadku małej wydajności elucji należy zapoznać się z rozdziałem „Elucja DNA”.

Wyizolowany DNA można przechowywać w temperaturze 2-8°C do 4 tygodni, lub w -20°C przez dłuższy czas.

Protokół 7

do zestawu Syngen GEL/PCR ME Mini Kit

Izolacja DNA z żelu agarozowego

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu Syngen GEL/PCR ME Mini Kit, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.
- Upewnij się, że przygotowałeś wszystkie potrzebne odczynniki i sprzęty opisane w rozdziale „Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem”.
- Upewnij się, że buforzy płuczące zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem”.
- Jeżeli w którymś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 37°C przez kilka minut i mieszając.
- Doprowadź wszystkie buforzy do temperatury pokojowej (15-25°C).
- Nastaw łaźnię wodną, blok grzejny lub termomikser na 55°C.
- Doprowadź próbki do temperatury pokojowej lub wyższej.

Procedura

1. W eppendorfke (nie dostarczono) umieść fragment żelu z DNA o masie do 200mg. Usuń marginesy żelu niezawierające DNA. Dodaj 500 ul buforu lizującego MWGP, zamknij i zmieszaj na wortexie.
Inkubuj w temperaturze 55°C przez 10-15 minut, aż do całkowitego rozpuszczenia żelu. Zmieszaj na wortexie co 3 minuty.
Zwiruj krótko probówki, aby usunąć krople z wieczka.

Jeśli używasz agarozy o stężeniu przekraczającym 2%, należy dodatkowo podwoić objętość buforu MWGP.

Zamiast okresowego mieszania można zastosować termomikser (zalecana opcja).

Jeśli żel nie rozpuści się całkowicie, należy przedłużyć inkubację z mieszaniem.

2. Umieść kolumnkę MGP w probówce 2 ml do płukania. Przenieś nie więcej niż 700 ul mieszaniny na kolumnkę. Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością. Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

Jeśli objętość lizatu w punkcie 1 była większa niż 700 ul, usuń przesącz (nie wyrzucaj probówki) i powtarzaj, aż do nałożenia całego lizatu na kolumnę.

3. Otwórz kolumnkę, dodaj 600 ul buforu płuczającego MP. Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością. Wylej przesącz, nie wyrzucaj probówki.

4. Wiruj przez 3 minuty z maksymalną prędkością, aby wysuszyć membranę i pozbyć się resztek buforów zawierających etanol.

Upewnij się, że w rogu kolumnki nie został żaden płyn.

5. Przenieś kolumnkę do probówki elucyjnej 1,5 ml (nie dostarczono) i wyrzuć starą probówkę 2 ml. Ostrożnie, nie dotykając membrany, dodaj na sam środek membrany 10-12 ul buforu elucyjnego ME lub wody o pH=7,0-8,5.

Zamknij wieczko i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.

Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.

Sposób elucji może być inny. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

Warunki inkubacji mogą być inne. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

6. Ostrożnie usuń kolumnkę i zamknij wieczko w probówce z wyizolowanym DNA.

Nie wyrzucaj kolumnki do czasu określenia stężenia wyizolowanego DNA. Jak w przypadku każdej metody chromatograficznej, niewłaściwe pH wody użytej do elucji może wyraźnie zmniejszyć wydajność elucji, a nawet uniemożliwić ją, powodując pozostanie DNA na kolumnie.

Przy pomiarze stężenia DNA metodami spektrofotometrycznymi, stosuj bufor użyty do elucji jako próbę ślełą (blank).

W przypadku małej wydajności elucji należy zapoznać się z rozdziałem „Elucja DNA”.

Wyizolowany DNA można przechowywać w temperaturze 2-8°C do 4 tygodni, lub w -20°C przez dłuższy czas.

Protokół 8 **do zestawu Syngen GEL/PCR ME Mini Kit**

Oczyszczanie DNA po reakcjach enzymatycznych

Zanim zaczniesz

- Jeżeli pierwszy raz używasz zestawu Syngen GEL/PCR ME Mini Kit, najpierw przeczytaj wszystkie rozdziały poprzedzające protokoły.
- Upewnij się, że przygotowałeś wszystkie potrzebne odczynniki i sprzęty opisane w rozdziale „Sprzęt i odczynniki potrzebne do wykonania procedury, a niedostarczone z zestawem”.
- Upewnij się, że buforzy płuczące zostały przygotowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w rozdziale „Przygotowanie odczynników przed pierwszym użyciem”.
- Jeżeli w którymś buforze wytrącił się precypitat, rozpuść go inkubując w 37°C przez kilka minut i mieszając.
- Doprowadź wszystkie buforzy do temperatury pokojowej (15-25°C).
- Doprowadź próbki do temperatury pokojowej (15-25°C).

Procedura

1. Do eppendorfki (nie dostarczono) dodaj 10-100 ul mieszaniny po reakcji enzymatycznej, np. PCR.
Dodaj 5-krotnie większą objętość buforu lizującego MWGP, zamknij i zmieszaj na wortexie.
Zwiruj krótko próbówki aby usunąć krople z wieczka.

Jeśli stosowano olej zamiast pokrywy grzejnej, zwróć uwagę, aby nie przenieść oleju.

2. Umieść kolumnkę MGP w próbówce 2 ml do płukania.
Przenieś całą zawartość próbówki z kroku 1 na kolumnkę.
Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.
Wylej przesącz, nie wyrzucaj próbówki.

Jeśli objętość lizatu w punkcie 3 jest większa niż 600 ul, przenieś na kolumnę tylko 600 ul.

Jeśli objętość lizatu w punkcie 3 była większa niż 600 ul, usuń przesącz (nie wyrzucaj próbówki) i wróć do kroku 5. Powtarzaj, aż do nałożenia całego lizatu na kolumnę.

3. Otwórz kolumnkę, dodaj 600 ul buforu płuczającego MP.
Zamknij wieczko i wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.
Wylej przesącz, nie wyrzucaj próbówki.

4. Wiruj przez 3 minuty z maksymalną prędkością, aby wysuszyć membranę i pozbyć się resztek buforów zawierających etanol.

Upewnij się, że w rogu kolumnki nie został żaden płyn.

5. Przenieś kolumnkę do próbówki elucyjnej 1,5 ml (nie dostarczono) i wyrzuć starą próbówkę 2 ml.
Ostrożnie, nie dotykając membrany, dodaj na sam środek membrany 10-12 ul buforu elucyjnego ME lub wody o pH=7,0-8,5.
Zamknij wieczko i inkubuj przez 2 minuty w temperaturze pokojowej.
Wiruj przez 1 minutę z maksymalną prędkością.

Sposób elucji może być inny. Więcej szczegółów na temat

zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

Warunki inkubacji mogą być inne. Więcej szczegółów na temat zwiększania wydajności elucji znajdziesz w rozdziale „Elucja DNA”.

6. Ostrożnie usuń kolumnkę i zamknij wieczko w probówce z wyizolowanym DNA.

Nie wyrzucaj kolumnki do czasu określenia stężenia wyizolowanego DNA. Jak w przypadku każdej metody chromatograficznej, niewłaściwe pH wody użytej do elucji może wyraźnie zmniejszyć wydajność elucji, a nawet uniemożliwić ją, powodując pozostanie DNA na kolumnie.

Przy pomiarze stężenia DNA metodami spektrofotometrycznymi, stosuj bufor użyty do elucji jako próbę ślepa (blank).

W przypadku małej wydajności elucji należy zapoznać się z rozdziałem „Elucja DNA”.

Wyizolowany DNA można przechowywać w temperaturze 2-8°C do 4 tygodni, lub w -20°C przez dłuższy czas.

Samodzielne rozwiązywanie problemów

Izolacja DNA z żelu:

Za niska czystość A260/A280

Przyczyna	Rozwiązanie
Zanieczyszczenia wprowadzone przez użytkownika	- Stosuj się do wskazówek w rozdziale „Ogólne wytyczne dotyczące obsługi zestawów Syngen DNA” – 3 akapit. Nakładaj bufory i próbki do wnętrza kolumny, nie zanieczyszczając brzegu kolumny
Nie dodano etanolu do buforu płuczającego przed pierwszym użyciem lub zastosowano etanol o złym stężeniu	- Powtórz izolację, przygotuj prawidłowo bufory, upewnij się, że używasz etanolu o podanym w protokole stężeniu

Mała lub zerowa wydajność izolacji

Przyczyna	Rozwiązanie
Mało DNA w próbce	- Powtórz izolację, użyj więcej próbki, jak podano w rozdziale „Materiał wyjściowy i wydajność DNA”
Niewydajna liza z powodu za dużej wielkości próbki	- Powtórz izolację. Zmniejsz wielkość próbki do wielkości zalecanej
Elucja wodą o niewłaściwym pH	- Użyj dostarczonego buforu do elucji
Przedziurawiono membranę	- Powtórz izolację
Niewydajna elucja	- Upewnij się, że nakraplasz bufor elucyjny na sam środek membrany - Upewnij się, że bufor wsiąkł w membranę, zanim zwirujesz kolumnkę
Fragmenty dłuższe niż 5.000	- Zastosuj elucję na ciepło, jak

pz	opisano w rozdziale „Elucja”
----	------------------------------

Żel nie chce się rozpuścić

Przyczyna	Rozwiązanie
Agarozą o stężeniu wyższym niż 2%	- Zastosuj dwukrotnie większą objętość buforu lizującego
Nie mieszano podczas inkubacji	- Przedłuż inkubację z mieszaniem - Zastosuj termomikser
Niewydajna liza z powodu za dużej wielkości próbki	- Powtórz izolację. Zmniejsz wielkość próbki do wielkości zalecanej

DNA po izolacji zawiera niespecyficzne fragmenty

Przyczyna	Rozwiązanie
Zanieczyszczenia wprowadzone przez użytkownika	- Stosuj się do wskazówek w rozdziale „Ogólne wytyczne dotyczące obsługi zestawów Syngen DNA” – 3 akapit. Nakładaj bufor i próbki do wnętrza kolumny, nie zanieczyszczając brzegu kolumny
DNA jest zdenaturowane	- Ogrzej DNA w zamkniętej probówce do temperatury 95°C, a następnie powoli ochładzaj do temperatury pokojowej. Procedurę tę najwygodniej jest wykonać w termocyklerze ustawiając ramping na -0,2°C/min. Alternatywnie próbki można umieścić w łaźni wodnej nagrzanej do 95°C, którą wyłączamy i czekamy aż sama ostygnie (bez wymuszonego chłodzenia).

Słabe wyniki dalszych reakcji

Przyczyna	Rozwiązanie
Zasolenie eluatu	- Powtórz izolację, wykonaj dwukrotne płukanie buforem płuczącym
Zanieczyszczenie etanolem w eluacie	- Powtórz izolację, przed dosuszaniem membrany w wirówce przez 3 minuty usuń przesącz lub wymień probówkę, zwróć uwagę na pozostałości buforu płuczącego po etapie dosuszania

Oczyszczanie DNA po reakcjach enzymatycznych:

Za niska czystość A260/A280

Przyczyna	Rozwiązanie
Zanieczyszczenia wprowadzone przez użytkownika	- Stosuj się do wskazówek w rozdziale „Ogólne wytyczne dotyczące obsługi zestawów Syngen DNA” – 3 akapit. Nakładaj bufony i próbki do wnętrza kolumny, nie zanieczyszczając brzegu kolumny
Nie dodano etanolu do buforu płuczącego przed pierwszym użyciem lub zastosowano etanol o złym stężeniu	- Powtórz izolację, przygotuj prawidłowo bufony, upewnij się, że używasz etanolu o podanym w protokole stężeniu

Mała lub zerowa wydajność oczyszczania

Przyczyna	Rozwiązanie
Mało DNA w próbce	- Powtórz izolację, użyj więcej próbki, jak podano w rozdziale „Materiał wyjściowy i wydajność DNA”
Niewydajna liza z powodu za	- Powtórz izolację. Zmniejsz wielkość

dużej wielkości próbki	próbki do wielkości zalecanej (maksymalnie 100 ul)
Elucja wodą o niewłaściwym pH	- Użyj dostarczonego buforu do elucji
Przedziurawiono membranę	- Powtórz izolację
Niewydajna elucja	- Upewnij się, że nakraplasz bufor elucyjny na sam środek membrany - Upewnij się, że bufor wsiąkł w membranę, zanim zwirujesz kolumnkę
Fragmenty dłuższe niż 5.000 pz	- Zastosuj elucję na ciepło, jak opisano w rozdziale „Elucja”

Słabe wyniki dalszych reakcji

Przyczyna	Rozwiązanie
Zasolenie eluatu	- Powtórz izolację, wykonaj dwukrotne płukanie buforem płuczącym
Zanieczyszczenie etanolem w eluacie	- Powtórz izolację, przed dosuszaniem membrany w wirówce przez 3 minuty usuń przesącz lub wymień probówkę, zwróć uwagę na pozostałości buforu płuczącego po etapie dosuszania



facebook.com/SyngenBiotech

Syngen Biotech Sp. z o.o. Sp. k.

54-116 Wrocław, ul. Ostródzka 13

kolumienki.pl, syngen.pl, info@syngen.pl

tel. +48 71 349 70 13, +48 349 91 66, +48 71 349 91 67, faks +48 71 349 70 33

