

Novabeads Flour DNA KIT

Zestaw do izolacji DNA z mąk różnego pochodzenia i produktów mącznych.

Novabeads Flour DNA KIT jest nowej generacji narzędziem w technikach biologii molekularnej umożliwiającym izolację DNA z mąk różnego pochodzenia i produktów mącznych. Metoda oparta jest o zastosowanie w pełni syntetycznego złoża magnetycznego selektywnie wiążącego kwasy nukleinowe. Specjalnie dobrany skład buforów wiążących i płuczających umożliwia izolację wysokocząsteczkowego DNA pomimo znacznej fragmentacji kwasów nukleinowych w procesie obróbki ziarna i przetwarzania mąki. Izolowany DNA nie ulega fragmentacji w trakcie procesu oczyszczania. Brak inhibitorów reakcji następczych pozwala na bezpośrednie zastosowanie oczyszczonych kwasów nukleinowych w innych technikach biologii molekularnej, takich jak:

- reakcja PCR
- sekwencjonowanie DNA zautomatyzowane i manualne
- defosforylacja
- fosforylacja
- ligacja
- badanie oddziaływań DNA-białko
- trawienie enzymami restrykcyjnymi.



Złoża magnetyczne w odróżnieniu od standardowych złożeń stosowanych do izolacji i oczyszczania DNA umożliwiają pełną automatyzację tego procesu. Procedura nie wymaga użycia specjalistycznego sprzętu takiego jak wirówka lub pompa próżniowa.

W skład zestawu wchodzi:

1. Cząstki magnetyczne – **Magnetic Particles**
2. Bufor do lizy - **Lysis Buffer**
3. Bufor do precypitacji – **Precipitation Buffer**
4. Bufor do wiązania – **Binding Buffer**
5. Bufor do płukania - **PreWash Buffer**
6. Bufor do płukania - **Wash Buffer**
7. Bufor do elucji - **TE Buffer**

Zestaw nie zawiera:

1. Statywu magnetycznego
2. 70% izopropanolu (2-propanol)
3. 80% etanol (alkohol etylowy)

UWAGA! Przed przystąpieniem do pracy należy dokładnie wymieszać wszystkie bufony i cząstki magnetyczne.

Warunki przechowywania: +4°C

Lot nr 01-190110

Exp. date 19.07.2010

UWAGA! Pewne składniki buforów mogą działać silnie drażniąco. Radzimy podczas pracy ze wszystkimi związkami chemicznymi przestrzegać ogólnie obowiązujących przepisów BHP.

Ograniczenia w zastosowaniu: Ten produkt został zaprojektowany i wykonany wyłącznie do celów badawczych. Nie został przetestowany w kierunku zastosowania do celów diagnostycznych i do bezpośredniej produkcji leków oraz do celów związanych z produkcją leków.

Protokoły zostały sprawdzone na następujących produktach:

- mąka pszenna 550, 450
- mąka żytnia razowa 720
- mąka kukurydziana
- kleik ryżowy

Protokół izolacji DNA z mąki:

1. W probówce na 2 ml umieścić 100-200 mg mąki (*). Następnie dodać 800 µl **Lysis Buffer** oraz 10 µl **RNazy A**. Zworteksować próbę przez kilka sekund, inkubować 10 min w temp. 65°C.
2. Po inkubacji zwirować próbę 10 min/12000 rpm. Do nowej próbówki przenieść supernatant tak, aby nie naruszyć osadu. Dopełnić próbę do maksymalnej objętości próbówki **Precipitation Buffer**. Zworteksować próbę, a następnie inkubować 5 min w temp. -20°C.
3. Zwirować próbę 10 min/12000 rpm. Supernatant usunąć poprzez energiczne odwrócenie próbówki.
4. Do osadu dodać 250 µl **Binding Buffer** i dokładnie zworteksować, aż do rozpuszczenia się osadu. Do próby dodać 10 µl **Magnetic Particles** (cząstek magnetycznych). Dokładnie zworteksować zawartość próbówki, następnie inkubować 10 min w temp. pokojowej.
5. Probówkę umieścić w statywie magnetycznym. Po zebraniu się cząstek magnetycznych odrzucić supernatant.
6. Cząstki magnetyczne zawiesić w 1 ml **PreWash Buffer**, delikatnie wytrząsać próbę (nie worteksować!), następnie inkubować 2-3 min w temp. pokojowej. Mieszać należy do chwili całkowitego oderwania się cząstek od powierzchni próbówki.
7. Powtórzyć czynności z punktu 6 z zastosowaniem **Wash Buffer**. Inkubować 1 min.
8. Cząstki magnetyczne zawiesić w 1 ml **80% EtOH**. Zawartość próbówki wymieszać przez kilkukrotne jej odwrócenie. Inkubować próbę przez 1 min w temp. pokojowej. Probówkę umieścić w statywie magnetycznym. Po zebraniu się cząstek magnetycznych odrzucić supernatant.
9. W celu usunięcia pozostałości etanolu otworzyć próbówki i odwrócić statyw następnie postawić w tej pozycji na bibule przez ok. 5 min.
10. Cząstki magnetyczne zawiesić przez worteksowanie w 50 µl **TE Buffer**. Mieszaninę inkubować w temp. 65°C przez 5 min/ 800 rpm, a następnie przy otwartej probówce w temp. 65°C przez następne 5 min/ 800 rpm.

(*). Ilość mąki zależy przede wszystkim od stopnia jej przetworzenia.

Protokół izolacji DNA z kleiku kukurydzianego:

1. W probówce na 1,5 ml umieścić 100 mg kleiku kukurydzianego. Następnie dodać 1,5 mL **Lysis Buffer**. Zworteksować próbę przez kilka sekund, inkubować 10 min w temp. 65°C.
2. Po inkubacji zwirować próbę 10 min/13000 rpm. Do nowej probówki przenieść supernatant tak, aby nie naruszyć osadu. Dopełnić próbę do maksymalnej objętości probówki **Precipitation Buffer**. Zworteksować próbę, a następnie inkubować 5 min w temp. -20C.
3. Zwirować próbę 10 min/13000 rpm. Supernatant usunąć poprzez energiczne odwrócenie probówki.
4. Do osadu dodać 250 µl **Binding Buffer** i dokładnie worteksować, aż do rozpuszczenia się osadu.

Na tym etapie można połączyć roztwory z 2 dwóch lub więcej próbek, co pozwala na zagęszczenie DNA.

5. Bez względu na ilość połączonych prób dodać 10 µl **Magnetic Particle** (cząstek magnetycznych) Dokładnie zworteksować zawartość probówki, następnie inkubować 10 min w temp. pokojowej.
6. Probówkę umieścić w statywie magnetycznym. Po zebraniu się cząstek magnetycznych odrzucić supernatant.
7. Postępować wg protokołu izolacji DNA z mąki od pkt 6.