

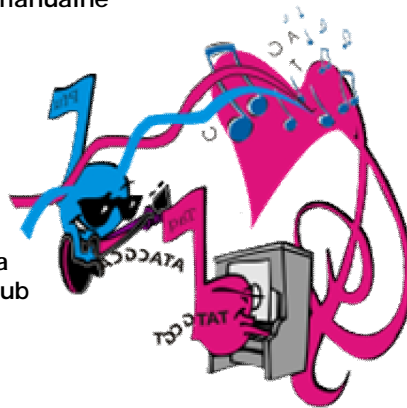
Novabeads Plant DNA KIT

Zestaw do izolacji genomowego DNA z tkanek roślinnych zawierających znaczne ilości metabolitów wtórnych i polisacharydów. (typ II)

Novabeads Plant DNA KIT jest nowej generacji narzędziem w technikach biologii molekularnej umożliwiającym izolację genomowego DNA z tkanek roślinnych. Metoda oparta jest o zastosowanie w pełni syntetycznego złoża magnetycznego selektywnie wiążącego kwasy nukleinowe. Specjalnie dobrany skład buforów wiążących i płuczących pozwala uzyskać DNA o bardzo wysokiej jakości i czystości. 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 złożów 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. Częstki magnetyczne – Magnetic Particles
2. Bufor do lizy - Lysis Buffer
3. Bufor do wiązania – Binding Buffer
4. Bufor do precypitacji – Precipitation 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-propanolu)
3. RNazy A

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

Warunki przechowywania: +4°C

Lot nr 01-180110

Exp. date 18.07.2010

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.

Protokół izolacji genomowego DNA z tkanek roślinnych:

1. Odważyć 100 mg tkanki roślinnej. Przygotowany fragment tkanki homogenizować w moździerzu w obecności 1 ml **Lysis Buffer***. Uzyskany homogenat przełożyć do probówki na 1,5 ml i podać RNazę A** . Po krótkim zworteksowaniu inkubować próbę przez 10 min w temp. 60°C.
2. Próbę zwirować 10 min/13000 rpm. Do nowej probówki przenieść supernatant tak, aby nie naruszyć osadu. Dopełnić próbę do max objętości probówki **Precipitation Buffer** i zworteksować. Inkubować 5 min w temp. pokojowej.
3. Próbę zwirować 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. Do próby dodać 50 µl cząstek magnetycznych (**Magnetic Particles**). Dokładnie zworteksować zawartość probówki, 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 worteksować 3-5 sek, następnie inkubować 2-3 min w temp. pokojowej.
7. Probówkę umieścić w statywie magnetycznym. Po zebraniu się cząstek magnetycznych odrzucić supernatant
8. Powtórzyć czynności z punktu 6 i 7 z zastosowaniem **Wash Buffer**.
9. Cząstki magnetyczne zawiesić w 1 ml **70% izopropanolu (2-propanolu)**. Zawartość probówki 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.
10. W celu odparowania pozostałości alkoholu pozostawić otwartą probówkę przez 10 min w temp. pokojowej.
11. Cząsteczki magnetyczne zawiesić w 75 µl **TE Buffer** i bardzo dokładnie zworteksować mieszaninę. Inkubować 10 min w temp. 55°C /800 rpm. Po inkubacji przy pomocy statywu magnetycznego oddzielić cząstki magnetyczne od supernatantu zawierającego DNA.

* Jeżeli pomiar OD wskazuje na zbyt dużą ilość polisacharydów należy zwiększyć ilość **Lysis Buffer** z 1 ml do 1,5 ml. Następnie po inkubacji i pierwszym wirowaniu pobrać 900 µl supernatantu do dalszych etapów izolacji.

** Zastosowanie RNazy A nie jest konieczne do przeprowadzenia izolacji DNA, jednak jej zastosowanie znacznie poprawia wydajność metody. Ilość RNazy A zależy od rodzaju tkanki i czasu inkubacji. Najczęściej stosuje się 10-40 µl RNazy A (10 mg/ml) na próbę.