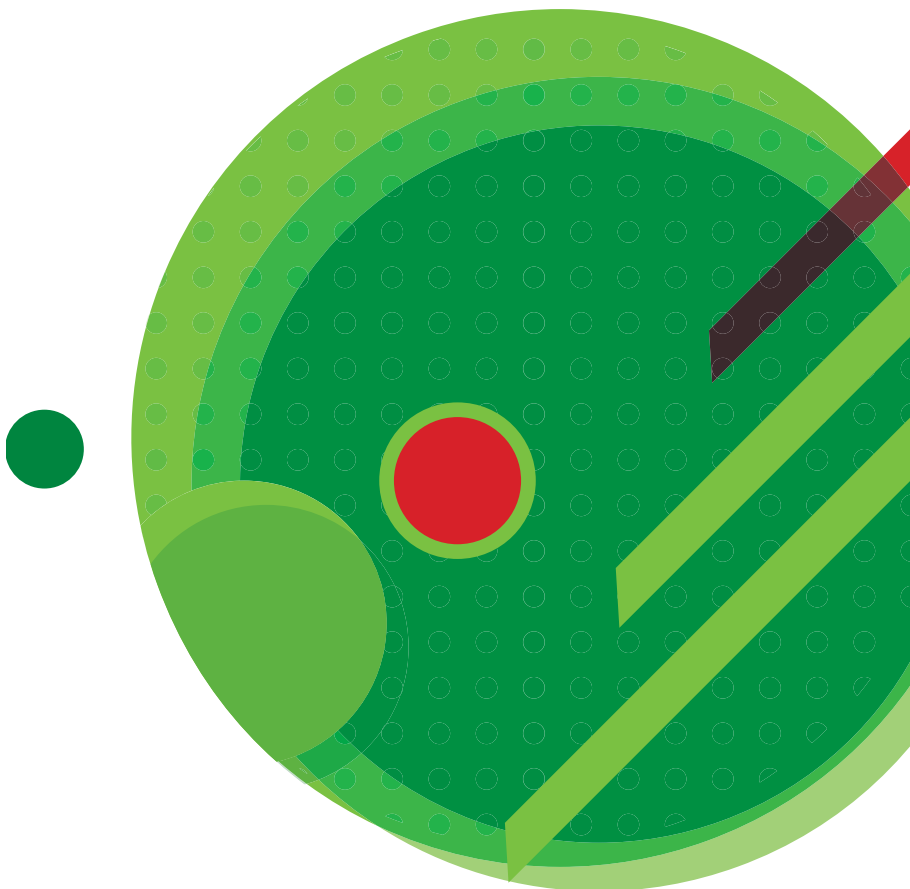


Zestaw do izolacji DNA z wymazów oraz nasienia



I. PRZEZNACZENIE ZESTAWU

Zestaw **EXTRACTME DNA SWAB & SEMEN KIT** przeznaczony jest do szybkiej i wydajnej izolacji genomowego DNA o wysokiej czystości z ludzkich oraz zwierzęcych wymazów z błon śluzowych (m.in. z policzka, nosa, gardła, pochwy) oraz nasienia. Protokół izolacji i składy buforów zostały zoptymalizowane w celu osiągnięcia zarówno wysokiej wydajności, jak i czystości izolowanego DNA. Produkt przeznaczony jest wyłącznie do użytku w celach badawczych.

II. SKŁAD I PRZECHOWYWANIE ZESTAWU

LICZBA IZOLACJI	10 IZOLACJI	50 IZOLACJI	250 IZOLACJI	¹ Warunki przechowywania
Nr katalogowy	EM06-010	EM06-050	EM06-250	
SSL Buffer (Lysis Buffer)	3.5 ml	18 ml	88 ml	TP
▲ Proteinase K* (lyophilized)	1 szt.	1 szt.	5 szt.	-20°C ²
Proteinase Buffer	200 µl	320 µl	1,6 ml	TP
▲ DTT**	1 szt.	1 szt.	1 szt.	-20°C ³
SSB Buffer (Binding Buffer)	3.5 ml	18 ml	88 ml	TP
SSW1 Buffer (Wash Buffer 1)	6 ml	30 ml	150 ml	TP
SSW2 Buffer (Wash Buffer 2)	4 ml	20 ml	100 ml	TP
Elution Buffer	2 ml	10 ml	5 x 10 ml	TP
DNA Purification Columns	10 szt.	50 szt.	5 x 50 szt.	TP
Collection Tubes (2 ml)	10 szt.	50 szt.	5 x 50 szt.	TP

¹ TP – temperatura pokojowa (+15°C do +25°C)

² Roztwór **Proteinase K** należy przechowywać w temperaturze **-20°C**.

³ Roztwór **DTT** należy przechowywać w temperaturze **-20°C**.

* Przed pierwszym użyciem do próbki zawierającej liofilizat Proteinase K należy dodać 320 µl Proteinase Buffer (w zestawie na 10 izolacji należy dodać 200 µl buforu).

** Przed pierwszym użyciem DTT należy rozpuścić w jałowej wodzie zgodnie z zaleceniami na etykiecie próbki.

Wszystkie roztwory z zestawu należy przechowywać szczelnie zamknięte, aby uniknąć zmiany stężeń w wyniku parowania.

Data ważności

Data ważności zestawu, przechowywanego w odpowiednich warunkach, podana jest na etykietach produktu. Po otwarciu zestaw zachowuje stabilność przez okres 12 miesięcy.

III. SPECYFIKACJA PRODUKTU

MATERIAŁ WYJŚCIOWY

Wymazy (m.in. z policzka, nosa, gardła, pochwy, krwi, śliny) lub nasienie.

WYDAJNOŚĆ IZOLACJI

Zależy od rodzaju i ilości pobranego materiału.

Do 3 µg DNA dla próbki wymazu oraz 2–7 µg DNA dla 150 µl próbki nasienia.

POJEMNOŚĆ ZŁOŻA

ok. 25 µg DNA

CZAS IZOLACJI

45–50 minut (łącznie z lizą)

CZYSTOŚĆ DNA

$$A_{260}/A_{280} = 1,7-1,9$$

IV. PRZYGOTOWANIE PRÓBK

A. NASIENIE

Próbkę nasienia należy pobrać do jałowego pojemnika. Zestaw pozwala na izolację DNA zarówno z materiału świeżo pobranego, jak i mrożonego. Nasienie można przechowywać w temperaturze +4°C przez krótki okres czasu lub w postaci zamrożonej (preferowana temperatura -80°C) przez dłuższy czas. Należy unikać częstego rozmrażania i zamrażania próbek przed izolacją.

Przed pobraniem odpowiedniej objętości nasienia do izolacji należy dokładnie wymieszać próbkę, z której materiał ma zostać pobrany.

Gdy objętość próbki nasienia jest mniejsza niż 150 µl, należy dodać Elution Buffer lub roztworu PBS (brak w zestawie) do całkowitej objętości 150 µl, a następnie przejść do pkt. 1 Protokołu izolacji z nasienia (sekcja VIIA). Należy jednak mieć na uwadze, że wydajność takiej izolacji DNA będzie niższa.

B. WYMAZY

W celu pobrania wymazu z błon śluzowych jamy ustnej należy co najmniej 10 razy mocno potrząść jałową pateczką wymazową wewnętrzną stroną policzka, a następnie końcówkę z pobranymi komórkami nabłonka umieścić w probówce 1,5–2 ml typu Eppendorf i odciąć wystający patyczek. Jakakolwiek forma osuszenia wymazu nie jest konieczna. Należy upewnić się, że osoba, od której pobierano wymaz nie spożywała pokarmów oraz płynów przez co najmniej 30 minut przed pobraniem próbki. Użycie niskiej jakości materiału wyjściowego znacząco wpływa na obniżenie wydajności izolacji DNA. Do wykonania wymazu można użyć każdej komercyjnie dostępnej jałowej pateczki wymazowej. Próbkę wymazu można przechowywać w temperaturze +4°C przez krótki okres czasu lub w postaci zamrożonej (preferowana temperatura -80°C) przez dłuższy czas.

V. PRZED PRYZYSTĄPIENIEM DO IZOLACJI

1. Każdy z odczynników zestawu należy wymieszać.
2. Należy pamiętać o rozpuszczeniu liofilizatu **Proteinase K** w odpowiedniej ilości Proteinase Buffer oraz **DTT** w wodzie, zgodnie z zaleceniami na probówkach.
3. W przypadku wytrącenia osadu w buforach, butelkę z roztworem należy ogrzać do temperatury 37°C (bufory **SSW1** i **SSW2**) lub 50–60°C (pozostałe bufory) i inkubować, aż do całkowitego rozpuszczenia osadu, mieszając co kilka minut, a następnie schłodzić do temperatury pokojowej.
4. Nagrzać termoblok lub łaźnię wodną do temperatury 56°C.
5. Należy pamiętać, aby wszystkie etapy izolacji przeprowadzać w temperaturze pokojowej, jeśli nie zalecono inaczej.

VI. PROTOKÓŁ IZOLACJI

A. NASIENIE

1. Do 1.5-2 ml probówki typu Eppendorf pobrać **150 µl nasienia**.
▲ Sposób pobierania próbki opisano w sekcji IVA. Przygotowanie próbki.
2. Dodać **350 µl** buforu do lizy **SSL Buffer**, **6 µl Proteinase K** oraz **20 µl 1M DTT**, worteksować 3 s.
3. Przejdź do pkt. 3 Protokołu izolacji DNA z wymazów (sekcja VI).

B. WYMAZY

1. Końcówkę pałeczki wymazowej z pobranym materiałem biologicznym umieścić w 1,5 ml probówce typu Eppendorf, a następnie odciąć wystającą część pałeczki tak, aby możliwe było swobodne zamknięcie probówki.
▲ Sposób pobierania wymazu opisano w sekcji IVB. Przygotowanie próbki.
2. Dodać **350 µl** buforu do lizy **SSL Buffer** oraz **6 µl Proteinase K**, worteksować 3 s.
3. Inkubować przez 30 min w temperaturze **56°C**. Podczas inkubacji kilka razy mieszać próbkę poprzez odwracanie probówki.
4. Dodać **350 µl** buforu wiążącego **SSB Buffer** i worteksować 3 s.
5. Inkubować przez 6 min w temperaturze **70°C**.
6. Dokładnie wycisnąć o ściankę probówki końcówkę pałeczki wymazowej tak, aby odzyskać jak największą ilość lizatu. Odrzucić pałeczkę wymazową.
▲ Można nie usuwać pałeczki wymazowej z probówki, jednakże wpłynie to na obniżenie wydajności izolacji DNA ze względu na niecałkowite naniesienie lizatu na minikolumnę.
7. Dodać **200 µl 96-100% etanolu** (brak w zestawie), wymieszać poprzez kilkukrotne odwracanie probówki.

8. Przenieść **700 µl lizatu** na złoże minikolumny umieszczonej w probówce odbierającej.
9. Wirować 60 s przy 11 000-15 000 x g.
10. Wylać przesącz z probówki odbierającej i umieścić w niej z powrotem minikolumnę.
11. Nanieść całą pozostałą objętość lizatu na złoże minikolumny.
12. Wirować 60 s przy 11 000-15 000 x g.
13. Przenieść minikolumnę do nowej probówki odbierającej (2 ml).
14. Dodać do minikolumny **600 µl** buforu płuczącego **SSW1 Buffer** i wirować 30 s przy 11 000-15 000 x g.
15. Wylać przesącz z probówki odbierającej i umieścić w niej z powrotem minikolumnę.
16. Dodać do minikolumny **400 µl** buforu płuczącego **SSW2 Buffer** i wirować 30 s przy 11 000-15 000 x g.
17. Wylać przesącz z probówki odbierającej i umieścić w niej z powrotem minikolumnę.
18. Wirować 60-120 s przy 15 000-21 000 x g.
 - ▲ Bufor płuczący zawiera alkohol, który może powodować inhibicję niektórych reakcji enzymatycznych, a także obniżenie wydajności elucji, dlatego istotne jest jego całkowite usunięcie przed etapem elucji.
19. Ostrożnie wyjąć suchą minikolumnę z probówki odbierającej i umieścić ją w jałowej probówce 1,5 ml typu Eppendorf.
20. Nanieść **50-100 µl Elution Buffer** centralnie na złoże w minikolumnie. Inkubować minikolumnę z buforem przez 2 min.
21. Wirować 60 s przy 11 000-15 000 x g.
22. Minikolumnę usunąć, a wyizolowane DNA przechowywać w temperaturze **+4°C** lub **-20°C** w zależności od dalszych analiz.

VII. BEZPIECZEŃSTWO I POSTĘPOWANIE Z PRODUKTEM

SSL Buffer



Uwaga

H319

P264, P305+P351+P338

SSB Buffer



Niebezpieczeństwo

H302, H315, H318, H332, H412

P261, P280, P301+P312 P330, P304+P340 P312,
P305+P351+P338 P310

Proteinase K



Niebezpieczeństwo

H315, H319, H334, H335

P261, P271, P304+P340, P342+P311, EUH208

DTT



Uwaga

H302, H315, H319, H335

P261, P301+P312 P330, P304+P340

SSW1 Buffer



Niebezpieczeństwo

H225, H315, H319, H336

P210, P304+P340 P312, P305+P351+P338

SSW2 Buffer



Niebezpieczeństwo

H225, H319, H336

P210, P261, P305+P351+P338

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary. **H302** Działa szkodliwie po połknięciu. **H315** Działa drażniąco na skórę. **H318** Powoduje poważne uszkodzenie oczu. **H319** Działa drażniąco na oczy. **H332** Działa szkodliwie w następstwie wdychania. **H334** Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. **H335** Może powodować podrażnienie dróg oddechowych. **H336** Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy. **H412** Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. **P210** Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić. **P261** Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. **P264** Dokładnie umyć ręce po użyciu. **P271** Stosować wyłącznie na zewnątrz lub w dobrze wentylowanym pomieszczeniu. **P280** Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu /ochronę twarzy. **P305+P351+P338** W przypadku dostania się do oczu: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. **P342+P311** W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCI lub z lekarzem. **P304+P340** W przypadku dostania się do dróg oddechowych: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie. **P312** W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z ośrodkiem zatruci lub lekarzem. **P301+P312 P330** W przypadku połknięcia: w przypadku złego samopoczucia skontaktować się z ośrodkiem zatruci lub lekarzem. Wypłukać usta. **P310** Natychmiast skontaktować się z ośrodkiem zatruci lub lekarzem.

