

Link do produktu: <http://www.novazym.sklep.pl/difast-apa-buffer-p-3842.html>



DIFAST (APA buffer)

Numer katalogowy

DF1000-01

Opis produktu

DIFAST (APA buffer)

DNA Isolation Fast Preparation System

Bufor przeznaczony do szybkiej izolacji DNA

Numer katalogowy produktu:

- DF1000-01 (100 preps)
- SDF Sample

Lot: 01110116

Przechowywanie: +4°C w ciemności

Protokół izolacji DNA DIFAST

Przygotowanie:

UWAGA! Bufor DIFAST ze względu na obecność cząstek stałych wymaga ciągłego mieszania w trakcie pobierania i przenoszenia go do próbek z materiałem. Najlepszym sposobem jest wykorzystanie mieszadła magnetycznego. Dokładnego przeprowadzenia tego etapu izolacji jest decydująca dla wykluczenia inhibitorów reakcji PCR zasadniczo wpływających na efektywność całego procesu izolacji.

Przed rozpoczęciem procedury należy przygotować zakręcane próbki o objętości 2mL z oringiem gumowym. Blok grzejny należy nastawić na temperaturę 100±30°C. Aby osiągnąć zakładany wydajność procesu izolacji DNA procedurę można kontynuować wyłącznie po osiągnięciu wymaganej temperatury.

Procedura:

Przygotowanie materiału:

Do sterylnej próbki należy pobrać:

- 10 mg tkanki do homogenizacji
- w przypadku izolacji z zawiesiny bakteryjnej z medium hodowlanym lub zawiesiny komórek pobrać 1mL lub 1,5mL zawiesiny płynnej. (UWAGA! Zawiesina komórek powinna być możliwie jednorodna nie zawierać cząstek stałych i być homogeniczna). Medium zawierające komórki lub bakterie należy odwirować w stożkowych próbkach 10 000 - 12 000g, 5 minut. Supernatant odrzucić przy pomocy 1000ul końcówki (nie przez dekantację!). W przypadku izolacji DNA z kolonii bakteryjnych przenieść 4-5 kolonii bezpośrednio do wcześniej przygotowanej próbki z 250ul DIFAST (w tym przypadku należy kontynuować

procedur? od etapu homogenizacji).

- Do przygotowanego materia?u doda? 250 ?l buforu DIFAST, nast?pnie dok?adnie resuspendowa? próbk? w buforze przy u?yciu pipety z ko?cówk? z filtrem o obj?to?ci 1000ul. Unika? formowania b?bli powietrza i areozoli.

Homogenizacja:

-r?cznie przy pomocy ko?cówek kronikalnych przeznaczonych do homogenizacji.

-przy zastosowaniu homogenizatora Bioprep-24 b b?d? Genie II wytr?sa? na maksymalnych obrotach 3min +/- 1min

UWAGA! W przypadku bakterii gram (+) w celu poprawy efektywno?ci homogenizacji zalecamy u?ycie kuleczek szklanych o ?rednicy 0,1 mm.

Inkubacja & wirowanie:

- Inkubowa? próby w 100oC przez 15 min w temp 1000C +/- 30C. :
- Po inkubacji próby dok?adnie zworteksowa? nast?pnie zwirowa? próbówki 10 000- 12 000 g przez 5 min. Przenie?? supernatant do nowych probówek osad odrzuci?.

Przechowywanie:

Wyekstrahowany DNA mo?e by? bezpo?rednio u?yty do PCR/qPCR. Mo?liwe jest przechowywanie DNA po izolacji w temp +40C +80C. D?ugotrwa?e przechowywanie DNA jest mo?liwe w temperaturze -180C ? 200C. Po d?ugotrwa?ym przechowywaniu w niskiej temperaturze nale?y preinkubowa? izolaty w temp. 1000C +/- 30C przed ponownym u?yciem w reakcji PCR/qPCR.

UWAGA! Pewne sk?adniki buforów mog? dzia?a? silnie dra?ni?co. Podczas pracy ze wszystkimi zwi?zkami chemicznymi nale?y przestrzega? ogólnie obowi?zuj?cych przepisów BHP. Ograniczenia w zastosowaniu: Ten produkt zosta? zaprojektowany i wykonany wy??cznie do celów badawczych. Nie zosta? przetestowany w kierunku zastosowania do celów diagnostycznych i do bezpo?redniej produkcji leków oraz do celów zwi?zanych z produkcj? leków.