Double Pure Kombi Kit

Datenblatt

Artikel-Nr. BS66.411.0010 10 Präparationen
Artikel-Nr. BS66.411.0050 50 Präparationen
Artikel-Nr. BS66.411.0250 250 Präparationen

(Nur für Forschung und *in vitro*-Anwendungen)

Chargen-Nr.:

Mindestens haltbar bis:

Aussehen:

Farbe:

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

Beschreibung

Für die Aufreinigung von DNA aus Agarose-Gelen und Reaktionsansätzen mittels Silika-Säulen zusammen mit optimierten Pufferlösungen.
Der auf Zeitersparnis optimierte Bio&SELL Double Pure Kombi Kit vereint mehrere Anwendungen in einem Produkt. Die Extraktion von DNA aus Agarose-Gelen ist mit diesem Kit ebenso möglich wie die schnelle DNA-Reinigung aus Reaktionen wie PCR-Ansätzen und Restriktionsverdauen. Zudem können Reaktionsansätze konzentriert werden, da eine Elution der DNA mit bereits 10 µl Volumen möglich ist.

Kit-Komponenten

Lagerung trocken bei Raumtemperatur (15-30°C)

	10 Präparationen	**50 Präparationen**	**250 Präparationen**
Gellöse-Reagenz (Gel Solubilizer)	8 ml	40 ml	180 ml
Bindungsoptimierer	1 ml	5 ml	15 ml
Bindepuffer	6 ml	30 ml	140 ml
Waschpuffer MT	3 ml (Endvolumen 15 ml)	2 x 8 ml (Endvolumen 2 x 40 ml)	2 x 40 ml (Endvolumen 2 x 200 ml)
Elutionspuffer	2 ml	2 x 2 ml	15 ml
Zentrifugationssäule E (grün)	10	50	5 x 50
Sammelgefäße 2,0 ml	10	50	5 x 50
Elutionsgefäße 1,5 ml	10	50	5 x 50

Bio&SELL

Lohweg 27
90537 Feucht bei Nürnberg

E-Mail: info@bio-sell.de
Internet: www.bio-sell.de

Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32
Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

Wichtige Schritte vor Beginn

- Zugabe von 96 – 99,8% Ethanol zu Waschpuffer MT.
  Die entsprechenden Volumina je nach Kit Größe entnehmen Sie der nachfolgenden Tabelle. Gründlich mischen und Flasche stets dicht verschlossen halten.

	10 Präparationen	**50 Präparationen**	**250 Präparationen**
Waschpuffer MT	**12 ml** 96 – 99,8% Ethanol zugeben	**32 ml** 96 – 99,8% Ethanol zugeben	**160 ml** 96 – 99,8% Ethanol zugeben

- Heizen Sie einen Thermomixer oder ein Wasserbad auf 50°C vor.
- Stellen Sie sicher, dass der Waschpuffer MT, gemäß der obigen Instruktionen, vorbereitet ist.
- Alle Zentrifugationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden.
- Gegebenenfalls die benötigte Menge Elutionspuffer auf 50 °C erwärmen.

Tipp:

Erwärmter Elutionspuffer erhöht die DNA Ausbeute!

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

Nicht im Kit enthaltene Komponenten

- 1,5 ml oder 2,0 ml Reaktionsgefäße
- 96 – 99,8% Ethanol
  (nur reinen Ethanol verwenden, keinen methylierten/denaturierten)

Qualitätskontrolle und technische Unterstützung

Alle Produkte von Bio&SELL werden umfassenden Qualitätskontrollen unterzogen. Dadurch wird gewährleistet, dass sie bei vorschriftsmäßiger Anwendung einwandfrei funktionieren. Die Komponenten jedes **Bio&SELL Double Pure Kit** wurden in der Aufreinigung und Wiedergewinnung von DNA-Fragmenten aus PCR-Reaktionsansätzen und Agarosegelen getestet und die extrahierte DNA nachfolgend Analysen im Agilent Bioanalyzer unterzogen.

Sollten Fragen oder Probleme auftreten, kontaktieren Sie uns bitte telefonisch unter: 09128 – 724 32 32.

Wir behalten uns das Recht vor, Änderungen zur Verbesserung der Durchführung und am Design vorzunehmen.

Kalkulation der Zentrifugalkraft (relative centrifugal force, rcf) in [g], ausgehend von Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute, rpm)

$RCF\ (g) = 1{,}19 \cdot 10^{-5} \times (rpm)^2 \times R$

R = Radius des Rotors in cm (Achtung: Radius, nicht Durchmesser!)

Beispiel: Berechnung der Zentrifugalkraft bei 10.000 rpm in einer Zentrifuge mit Rotor-Radius 9 cm

$RCF = 1{,}19 \cdot 10^{-5} \times (10.000)^2 \times 9$

$RCF = 10.710 \times g$

Bio&SELL		
Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

Sicherheitsanweisungen

Bitte gehen Sie mit allen Materialien und Reagenzien, die im Kit enthalten sind, vorsichtig um. Es sollten immer Handschuhe getragen und Hautkontakt vermieden werden!

Bei Kontakt mit Augen oder Haut sofort mit viel Wasser abspülen!

Lesen Sie sich bitte jeden Abschnitt sorgfältig durch, um Ihre eigene Sicherheit und eine reibungslose Durchführung zu garantieren. Folgen Sie allen Sicherheitshinweisen wie in dieser Broschüre erklärt, sowie auch Hinweisen und Informationen.

Für den einmaligen Gebrauch

Verwenden Sie keine Komponente ein zweites Mal!

Vorsicht!

- Trinken oder Essen der Kit-Komponenten sind strikt untersagt!
- Wenn die Pufferflaschen beschädigt oder undicht sind, tragen Sie bei der Entsorgung der Flaschen Handschuhe und eine Schutzbrille, um Verletzungen zu vermeiden. Dieses Kit kann mit potentiell infektiösen Proben verwendet werden. Daher müssen alle flüssigen Abfälle als potentiell infektiös betrachtet werden und müssen entsprechend der örtlichen Sicherheitsvorschriften behandelt und verworfen werden.
- Bitte beachten Sie die Bundes-, Landes- und örtlichen Sicherheits- und Umwelt-vorschriften. Befolgen Sie die üblichen Vorsichtsmaßnahmen für die Arbeiten mit extrahierten Nukleinsäuren. Alle Materialien und Reagenzien, die für die DNA- oder RNA-Isolierung verwendet werden, sollten frei von DNasen und RNasen sein.

Double Pure Kombi Kit

Vorsicht!

Fügen Sie nach der Probenvorbereitung dem Abfall keine Bleiche oder sauren Bestandteile hinzu.

Hinweis:

Notfallmedizinische Informationen in englischer und deutscher Sprache können 24 Stunden am Tag erhalten werden:

Telefonnummern der Vergiftungs - Informations- Zentralen:

München +49 (0)89 19240
Wien 01/406 43 43
Zürich + 41 44 251 51 51 (für die Schweiz: 145)

Für weitere Informationen fragen Sie bitte das Sicherheitsdatenblatt an.

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

GHS-Klassifikation

Komponente	Gefährdender Inhalt	GHS Symbol	H-Sätze	P-Sätze	EUH
Gelauflösepuffer (Gel Solubilizer)	Guanidinium-thiocyanat 50-100% Essigsäure 1 - < 2,5 % Polyethyleneglykol-oktylphenoläther 0,3 - <1,0 %	 Gefahr	302 + 312 + 332, 314 412	101, 102, 103, 260, 303 + 361 + 353, 305 + 351 + 338, 310, 405, 501	032
Bindepuffer	Propan–2–ol 50 – 100 % Diammoniumhydrogen-2–hydroxypropane–1,2,3-trikarboxylat 0,1 - < 2,5 %	 Gefahr	225, 319, 336	101, 102, 103, 210 261, 303 + 361 + 353, 305 + 351 + 338, 405, 501	
Bindungs-optimierer	Essigsäure 1 - < 2,5 %	 Achtung	315,319	101, 102, 103, 280, 305 + 351 + 338, 362, 302 + 352, 403+233, 501	

Wichtig: Keine Bleiche oder säurehaltigen Lösungen direkt zum Präparationsabfall geben!

Bio&SELL		
Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

H-Sätze

225	Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
314	Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
315	Verursacht Hautreizungen**.**
319	Verursacht schwere Augenreizung.
336	Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
412	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
302 + 312 + 332	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen.

P-Sätze

101	Ist ärztlicher Rat erforderlich, Verpackung oder Kennzeichnungsetikett bereithalten.
102	Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen.
103	Vor Gebrauch Kennzeichnungsetikett lesen.
260	Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
261	Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.
280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
310	Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.
362	Kontaminierte Kleidung ausziehen.
405	Unter Verschluss aufbewahren.

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

501	Inhalt/Behälter gemäß der lokalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.
302 + 352	Bei BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser waschen.
403 + 233	An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Behälter dicht verschlossen halten.
303 + 361 + 353	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen [oder duschen].
305 + 351 + 338	BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

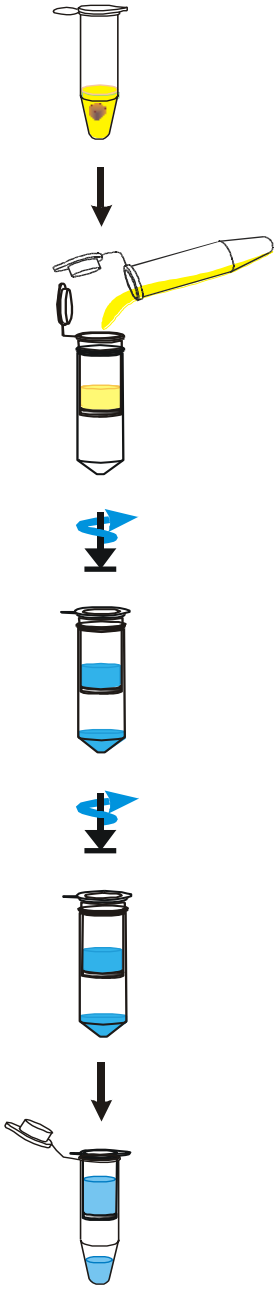
EUH-Sätze

032	Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

Funktionsweise



Lyse des Ausgangsmaterials

Binden der DNA an der Säule

Waschen der gebundenen DNA

Elution der DNA

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Protokoll 1: Isolierung von DNA aus Agarosegelen (TAE- oder TBE-Gele)

Wichtiger Hinweis: Optional können Sie die benötigte Menge Elutionspuffer vorab auf 50°C erwärmen. Dies erhöht die Ausbeute im Elutionsschritt.

1. DNA-Fragment mit einem scharfen Skalpell aus dem Agarosegel ausschneiden. Darauf achten, dass das Gewicht des Gelstücks minimal ist. Gewicht durch Wiegen überprüfen. **Nicht mehr als 300 mg Gelstück pro Zentrifugationssäule einsetzen.** Gelstück in ein **1,5 ml oder 2,0 ml Reaktionsgefäß** überführen und **650 µl Gel-Lösungsreagenz (Gel Solubilizer)** zugeben.

2. Bei 50°C für 10 min inkubieren, bis die Agarose vollständig aufgelöst ist, möglichst unter Schütteln (z.B. in einem Thermomixer). Falls ein kontinuierliches Schütteln nicht möglich ist, die Probe während der Inkubation 3 – 4 mal vortexen.

3. **50 µl Bindungsoptimierer** zugeben. Lösung durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren oder durch Vortexen gründlich mischen.

4. Eine **Zentrifugationssäule** in ein **2,0 ml Sammeltube** stellen. Den Deckel verschließen und bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 min zentrifugieren. Den Zentrifugationsschritt wiederholen.
Hinweis: Falls der Überstand nicht komplett durch die Membran zentrifugiert wurde, nochmals bei höherer Geschwindigkeit zentrifugieren oder die Zentrifugationszeit verlängern.

Den Durchfluß verwerfen. Zentrifugationssäule zurück in das **2,0 ml Sammeltube** stellen.

5. Zentrifugationssäule öffnen und **700 µl Waschpuffer MT** zugeben. Den Deckel verschließen und bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 min zentrifugieren. Den Durchfluß verwerfen. Zentrifugationssäule zurück in das **2,0 ml Sammeltube** stellen.

6. Zentrifugationssäule öffnen und nochmals **700 µl Waschpuffer MT** zugeben. Den Deckel verschließen und bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 min zentrifugieren. Den Durchfluß verwerfen. Zentrifugationssäule zurück in das **2,0 ml Sammeltube** stellen.

Bio&SELL

Lohweg 27
90537 Feucht bei Nürnberg

E-Mail: info@bio-sell.de
Internet: www.bio-sell.de

Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32
Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

7. Bei max. Geschwindigkeit für 2 min zentrifugieren, um alle Reste von Ethanol vollständig zu entfernen. Das Sammeltube mit dem Durchfluß verwerfen. Zentrifugationssäule in ein **1,5 ml Elutionsgefäß** stellen.

8. Zentrifugationssäule öffnen und **30 - 50 µl Elutionspuffer (evtl. vorgewärmt auf 50°C)** zugeben. Bei Raumtemperatur für 1 min inkubieren, dann bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 min zentrifugieren. Darauf achten, dass der Elutionspuffer mittig auf die Zentrifugationssäule pipettiert wird. Für eine maximale Ausbeute an DNA können zwei Elutionsschritte durchgeführt werden.

Hinweis: Die DNA kann auch mit geringeren oder mit höheren Volumina an Elutionspuffer eluiert werden als oben angegeben. Bei geringeren Volumina an Elutionspuffer erhöht sich die Endkonzentration der DNA. Die extrahierte DNA sollte bei 4°C aufbewahrt werden. Für Langzeitlagerung wird eine Temperatur von - 20°C empfohlen.

Bio&SELL		
Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Protokoll 2: Isolierung von DNA aus Agarosegelen (TAE- oder TBE-Gele) mit 10 - 20 µl Elutionsvolumen

Wichtiger Hinweis: Optional können Sie die benötigte Menge Elutionspuffer vorab auf 50°C erwärmen. Dies erhöht die Ausbeute im Elutionsschritt.

1. DNA-Fragment mit einem scharfen Skalpell aus dem Agarosegel ausschneiden. Darauf achten, dass das Gewicht des Gelstücks minimal ist. Gewicht durch Wiegen überprüfen. **Nicht mehr als 300 mg Gel-stück pro Zentrifugationssäule einsetzen**. Gelstück in ein **1,5 ml oder 2,0 ml Reaktionsgefäß** überführen und **650 µl Gel-Lösungsreagenz (Gel Solubilizer)** zugeben:

2. Bei 50°C für 10 min inkubieren, bis die Agarose vollständig aufgelöst ist, möglichst unter Schütteln (z.B. in einem Thermomixer). Falls ein kontinuierliches Schütteln nicht möglich ist, die Probe während der Inkubation 3 – 4 mal vortexen.

3. **50 µl Bindungsoptimierer** zugeben. Lösung durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren oder durch Vortexen gründlich mischen.

4. Eine **Zentrifugationssäule** in ein **2,0 ml Sammeltube** stellen. Den Deckel verschließen und bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 min zentrifugieren. Den Zentrifugationsschritt wiederholen.
Hinweis: Falls der Überstand nicht komplett durch die Membran zentrifugiert wurde, nochmals bei höherer Geschwindigkeit zentrifugieren oder die Zentrifugationszeit verlängern.
Den Durchfluß verwerfen. Zentrifugationssäule zurück in das **2,0 ml Sammeltube** stellen.

5. Zentrifugationssäule öffnen und **700 µl Waschpuffer MT** zugeben. Den Deckel verschließen und bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 min zentrifugieren. Den Durchfluß verwerfen. Zentrifugationssäule zurück in das **2,0 ml Sammeltube** stellen.

6. Zentrifugationssäule öffnen und nochmals **700 µl Waschpuffer MT** zugeben. Den Deckel verschließen und bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 min zentrifugieren. Den Durchfluß verwerfen. Zentrifugationssäule zurück in das **2,0 ml Sammeltube** stellen.

7. Bei max. Geschwindigkeit für 2 min zentrifugieren, um alle Reste von Ethanol vollständig zu entfernen. Das Sammeltube mit dem Durchfluß verwerfen. Zentrifugationssäule in ein **1,5 ml Elutionsgefäß** stellen.

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

8. Zentrifugationssäule öffnen und **10 - 20 µl Elutionspuffer (evtl. vorgewärmt auf 50°C)** zugeben. Bei Raumtemperatur für 2 min inkubieren, dann bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 min zentrifugieren. Darauf achten, dass der Elutionspuffer mittig auf die Zentrifugationssäule pipettiert wird.

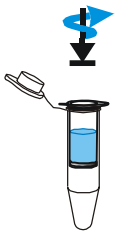
Hinweis: Die extrahierte DNA sollte bei 4°C aufbewahrt werden. Für Langzeitlagerung wird eine Temperatur von - 20°C empfohlen.

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

Funktionsweise:

Isolierung von PCR-Fragmenten aus Reaktionsansätzen

	Zugabe von Bindepuffer zum Reaktionsansatz
	Binden des PCR-Fragmentes
	Elution des PCR-Fragmentes

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Protokoll 3: Aufreinigung und Aufkonzentrierung von PCR- Fragmenten aus Reaktionsansätzen bis zu 50 µl

Wichtiger Hinweis: Optional können Sie die benötigte Menge Elutionspuffer vorab auf 50°C erwärmen. Dies erhöht die Ausbeute im Elutionsschritt.

1.Eine Zentrifugationssäule in ein **2,0 ml Sammeltube** stellen. **500 µl Bindepuffer** auf die Zentrifugationssäule geben. **Bis zu 50 µl PCR-Ansatz** dazugeben und beide Lösungen durch dreimaliges Auf- und Abpipettieren sorgfältig mischen. **Filtermembran nicht beschädigen!** Bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 3 min zentrifugieren.

Alternativ, zunächst 500 µl Bindepuffer und bis zu 50 µl PCR-Ansatz außerhalb der Zentrifugationssäule in einem separaten Reaktionsgefäß durch Vortexen oder mehrmaliges Auf- und Abpipettieren sorgfältig mischen. Die Lösung auf die Zentrifugationssäule geben. Bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 3 min zentrifugieren.

Das Sammeltube mit dem Durchfluß verwerfen. Vermeiden Sie jeglichen Kontakt der Zentrifugationssäule mit dem Durchfluß!

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Hinweis:
Für höchstmögliche Reinheit, den Durchfluss nach einer Zentrifugation bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 Minute verwerfen. Die Zentrifugationssäule zurück in das Sammeltube stellen und bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für weitere 2 Minuten zentrifugieren.

2. Die **Zentrifugationssäule** in ein **1,5 ml Elutionsgefäß** stellen und **20 – 50 µl Elutionspuffer (evtl. vorgewärmt auf 50°C)** oder ddH_2O mittig auf die Säulenmatrix pipettieren. 1 min bei Raumtemperatur inkubieren und anschließend bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 min zentrifugieren. Das Eluat enthält die gereinigten PCR-Fragmente.

Wichtige Hinweise:

1. Zur Erhöhung der DNA-Ausbeute wird die Verlängerung der Inkubation mit **Elutionspuffer** auf bis zu 5 min empfohlen.
3. Falls das Volumen des PCR-Reaktionsansatzes **größer als 50 µl** ist, den Ansatz aufteilen und **jeden Teil mit 500 µl Bindepuffer** versetzen. Zunächst den einen Teil auf die Zentrifugationssäule geben und für 1 min zentrifugieren, anschließend den zweiten Teil und diesen für 2 min zentrifugieren. Die Elution wie oben besprochen durchführen.

Protokoll 4: Aufreinigung und Aufkonzentrierung von PCR- Fragmenten aus Reaktionsansätzen bis zu 50 µl mit 10 µl Elutionsvolumen

Wichtiger Hinweis: Optional können Sie die benötigte Menge Elutionspuffer vorab auf 50°C erwärmen. Dies erhöht die Ausbeute im Elutionsschritt.

1. Eine Zentrifugationssäule in ein **2,0 ml Sammeltube** stellen. **500 µl Bindepuffer** auf die Zentrifugationssäule geben. **Bis zu 50 µl PCR-Ansatz** dazugeben und beide Lösungen durch dreimaliges Auf- und Abpipettieren sorgfältig mischen. **Filtermembran nicht beschädigen!**
Bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 3 min zentrifugieren.

Alternativ, zunächst 500 µl Bindepuffer und bis zu 50 µl PCR-Ansatz außerhalb der Zentrifugationssäule in einem separaten Reaktionsgefäß durch Vortexen oder mehrmaliges Auf- und Abpipettieren sorgfältig mischen. Die Lösung auf die Zentrifugationssäule geben.
Bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 3 min zentrifugieren.

Bio&SELL

Lohweg 27
90537 Feucht bei Nürnberg

E-Mail: info@bio-sell.de
Internet: www.bio-sell.de

Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32
Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Hinweis:
Für höchstmögliche Reinheit, den Durchfluss nach einer Zentrifugation bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 Minute verwerfen. Die Zentrifugationssäule zurück in das Sammeltube stellen und bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für weitere 2 Minuten zentrifugieren.

Das Sammeltube mit dem Durchfluß verwerfen. Vermeiden Sie jeglichen Kontakt der Zentrifugationssäule mit dem Durchfluß!

2. Die **Zentrifugationssäule** in ein **1,5 ml Elutionsgefäß** stellen und **10 –20 µl Elutionspuffer (evtl. vorgewärmt auf 50°C)** oder ddH_2O mittig auf die Säulenmatrix pipettieren. 2 min (**Alternativ** 5 min s. Hinweis unten) bei Raumtemperatur inkubieren und anschließend bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 min zentrifugieren.
Das Eluat enthält die gereinigten PCR-Fragmente.

Wichtige Hinweise:

1. Falls das Volumen des PCR-Reaktionsansatzes **größer als 50 µl** ist, den Ansatz aufteilen und **jeden Teil mit 500 µl Bindepuffer** versetzen. Zunächst den einen Teil auf die Zentrifugationssäule geben und für 1 min zentrifugieren, anschließend den zweiten Teil

Bio&SELL

Lohweg 27
90537 Feucht bei Nürnberg

E-Mail: info@bio-sell.de
Internet: www.bio-sell.de

Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32
Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

und diesen für 2 min zentrifugieren. Die Elution wie oben besprochen durchführen.

2. Zur Erhöhung der DNA-Ausbeute wird die Verlängerung der Inkubation mit **Elutionspuffer** auf bis zu 5 Minuten empfohlen
3. Das minimale Elutionsvolumen ist 10 µl

Bio&SELL

Lohweg 27
90537 Feucht bei Nürnberg

E-Mail: info@bio-sell.de
Internet: www.bio-sell.de

Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32
Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

Troubleshooting

Problem / mögliche Ursache	Bemerkungen und Vorschläge
Niedrige Ausbeute	
Inkorrekter Waschpuffer oder kein Ethanol zugegeben	**Waschpuffer** wie im Protokoll beschrieben zubereiten. Den Waschpuffer mit **fest verschlossener Flasche** aufbewahren.
Schlechte Elution der DNA	**Elutionspuffer** direkt mittig auf die **Zentrifugationssäulenmatrix** pipettieren, auch bei sehr geringem Elutionsvolumen.
Unzureichende Auflösung des Agarose-Gelstücks	Das Gelstück muss vollständig aufgelöst sein. Gegebenenfalls **Inkubationszeit** verlängern.
Kein Bindungsoptimierer zugegeben	Die im Protokoll beschriebene Menge **Bindungsoptimierer** zugeben.
Schlechte Qualität der DNA	Nach dem Waschen der DNA einen zusätzlichen Waschschritt mit 600 µl 80%igem Ethanol durchführen. Nur reinen / nicht-denaturierten Alkohol verwenden. Bei 11.000 x g (~11.000 rpm) für 1 Minute zentrifugieren und den Durchfluss verwerfen. Mit dem Protokoll wie beschrieben fortfahren mit Zentrifugation für 2 Minuten.

Bio&SELL		
Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

Probleme mit Nachfolgeanwendungen, z.B. Ligation	
Kontamination mit Salz	**Waschschritte** wie im Protokoll beschrieben durchführen.
Kontamination mit Resten von Agarose	Zentrifugationssäule einmal **mit Gel-Lösungsreagenz (Gel Solubilizer) waschen.**
Kontamination des Eluats mit Ethanol	Die im Protokoll angegebenen **Zentrifugationszeiten einhalten**, gegebenenfalls sogar verlängern.
Probleme mit mineralischem Öl	Eine größere Menge **Bindepuffer** zugeben.

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

Technische Daten

Sicherheitsanweisungen

Bitte gehen Sie mit allen Materialien und Reagenzien, die im Kit enthalten sind vorsichtig um. Es sollten immer Handschuhe getragen und Hautkontakt vermieden werden!

Bei Kontakt mit Augen oder Haut sofort mit viel Wasser abspülen!

Versand: bei Raumtemperatur

Lagerung: Das **Bio&SELL Double Pure Kit** sollte trocken und bei Raumtemperatur (14–25°C) gelagert werden. Unter diesen Bedingungen ist es mindestens bis zum auf der Umverpackung angegebenen Mindesthaltbarkeitsdatum stabil.

Vor jeder Nutzung sollten alle Komponenten Raumtemperatur haben. Kristalle, die sich eventuell während der Lieferung bzw. Lagerung gebildet haben, können durch vorsichtiges Erwärmen gelöst werden. Unter Umständen kann bei dem Gel-Lösungsreagenz (Gel Solubilizer) eine Gelbfärbung auftreten. Dies hat **keinen** Einfluss auf die Funktionalität des **Bio&SELL Double Pure Kits**!

Sicherheitshinweis: Dieses Produkt sollte nur von Personen verwendet werden, die Routine in Laboranwendungen haben. Es sollte laborübliche Schutzkleidung wie Kittel, Handschuhe und Schutzbrillen getragen werden. Bei Kontakt mit Haut und Augen sollten die betroffenen Stellen umgehend mit Wasser gewaschen bzw. ausgespült werden.

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33

Double Pure Kombi Kit

Weitere Produkte, die Sie interessieren könnten:

Bio&SELL
Universal Agarose
Bio&SELL Universal Agarose als kostengünstige Standardagarose für Routinegele mit einem Trennbereich von 0,05 -50 kbp

500g für nur 189 EUR zzgl. MwSt.

Bio&SELL
Low Melt Agarose
Bio&SELL Low Melt Agarose als hochreine, klare Spezialagarose mit niedriger Schmelztemperatur und einem Trennbereich von 0,8 – 25 kbp für z.B. eine präparative Auftrennung bei allen gängigen „In-Gel-Arbeiten“

ab 94,90 EUR zzgl. MwSt.

Bio&SELL
Hochauflösende Agarose
Bio&SELL hochauflösende Agarose als Alternative zu arbeitsaufwändigen, teuren Polyacrylamidgelen ist speziell für die Auftrennung von Nukleinsäuren im Bereich von 20bp – 800bp optimiert

ab 81,90 EUR zzgl. MwSt.

Die Agarosen mit dem besten Preis-Leistungs-Verhältnis!

www.bio-sell.de

Bio&SELL Lohweg 27 90537 Feucht bei Nürnberg	E-Mail: info@bio-sell.de Internet: www.bio-sell.de	Fon : +49 (0) 9128 – 724 32 32 Fax : +49 (0) 9128 – 724 32 33