

PIKA HEATEx 36

Zur schnellen DNA Isolierung aus angereichertem Probenmaterial

Art.-Nr. 2034-1-1



Achtung! Lesen Sie die Gebrauchsanweisung und die Sicherheitsdatenblätter vor Beginn der Analyse aufmerksam durch. Die Sicherheitsdatenblätter sind im Downloadbereich auf www.pika-weihenstephan.de zu finden. Alle Probenbearbeitungsschritte sollten möglichst unter sterilen Bedingungen durchgeführt werden. Tragen Sie während der Ausführung der Analyse adäquate Schutzbekleidung und puderfreie Einweghandschuhe. Die Verwendung von Filter-Pipettenspitzen wird empfohlen. Nur zu Forschungszwecken zu verwenden!

Produktbeschreibung

Der DNA Isolierungskit PIKA HeatEx 36 wurde für die einfache DNA Isolierung von Bakterien und Hefen aus angereicherten Proben entwickelt und ist für die Real time PCR optimiert. Die Mikroorganismen können sowohl von festen Oberflächen z.B. Kolonien auf Membranfiltern, als auch aus flüssigen Proben entnommen werden. Einzelkolonien sind für die Analyse nicht erforderlich. Die isolierte DNA kann direkt für molekularbiologische Analysen z.B. PCR eingesetzt werden.

Kit Inhalt

Mitgelieferte Materialien, ausreichend für 36 Isolationen.

Bezeichnung	Volumen	Lagerung*
Waschpuffer A (gelber Deckel)	1 x 10,0 ml	4°C oder Raum- temperatur
Lysepuffer B (blauer Deckel)	1 x 10,0 ml	
Verdünnungspuffer A	1 x 2,0 ml	

* Kit wird bei Raumtemperatur versendet

Benötigte Materialien, die nicht mitgeliefert werden

Material
Instrumente und Equipment
Tischzentrifuge für 1,5 ml Reaktionsgefäße
Reagenzglasschüttler (Vortexer)
Thermoheizblock oder Wasserbad beheizbar bis mind. 80°C
Pipetten
Verbrauchsmaterialien und Reagenzien
Puderfreie Einweghandschuhe
1,5 ml Reaktionsgefäße, safe-lock, steril
Filterspitzen

Durchführung der Analyse

- Die Probe wird in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß pipettiert:
 - Flüssige Proben:*
 - 50 µl von einer bakteriell getrübbten Probe
 - 1,0 – 1,5 ml von einer nicht trüben Probe (ggf. kann auch größeres Volumen zur Zentrifugation eingesetzt werden)
 - 50 – 200 µl von Anstellhefe, um nach der Zentrifugation ein Pellet von maximal 2 mm zu erhalten (vgl. Abb. 1)
 - Kolonien:* Sowohl einzelne Kolonien als auch mehrere Kolonien gemeinsam können als eine Probe bearbeitet werden
 - 200 µl Waschpuffer A in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß pipettieren und die Kolonie(n) in die Flüssigkeit geben. Schritte 4. bis 6. werden dann weggelassen.
- Probe in einer Mikroliterzentrifuge bei 12.000 bis 14.000 U/min (25.000 x g) 3 min zentrifugieren; alternativ für Zentrifugen mit niedriger Drehzahl: 10 min bei 4.000 U/min (1.500 x g)
- Die Größe des Pellets kontrollieren, es enthält die Bakterienzellen aus der Probe. Das Pellet darf eine Größe von ca. 2 mm Durchmesser nicht überschreiten (siehe Abb. 1). Falls nötig, einen Teil vom Pellet mit dem Überstand verwerfen
- Überstand vorsichtig abpipettieren oder abgießen und verwerfen
- Optional: 200 µl Waschpuffer A zum Pellet zugeben, Pellet gut resuspendieren und die Schritte 2-3 wiederholen
- 200 µl Lysepuffer B zum Pellet zugeben
- 10 min bei 80 °C ± 5 °C (Thermomixer oder Wasserbad) inkubieren
- Nochmals wie unter 2. zentrifugieren
Das Pellet enthält Reste der Zellwände und andere von der DNA abgetrennte Partikel.
- 100 µl des Überstandes, der die DNA enthält, in ein frisches Reaktionsgefäß umpipettieren und für z.B. die PCR Analyse benutzen, ggf. für die Lagerung bei –18 bis –20 °C einfrieren

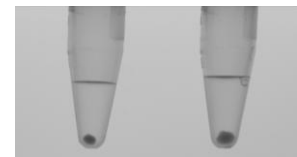


Abb. 1: empfohlene Pelletgrößen
Links: max. bakterielle Pelletgröße
Rechts: max. Pelletgröße für Probe,
die Hefe enthält

Der Verdünnungspuffer A kann bei Bedarf genutzt werden, um die DNA zu verdünnen.

PIKA Weihenstephan GmbH
Raiffeisenstraße 31A
85276 Pfaffenhofen
DEUTSCHLAND
Tel +49(08441)879 48 30
Fax +49(08441)879 48 31

www.pika-weihenstephan.de
order@pika-weihenstephan.de

Anmerkungen: Anwendungen: Das Produkt ist ausschließlich für Forschungszwecke zu verwenden.
Schutzrechte: Die Verwendung unserer Produkte kann Schutzrechte Dritter berühren. PIKA Weihenstephan GmbH übernimmt keinerlei Verantwortung für die rechtmäßige Anwendung der Applikation; diese liegt ausdrücklich und ausschließlich beim Nutzer.