

# Simplex<sup>®</sup> Easy Spin

DNA-Extraktion aus *Alicyclobacillus spp.*

DNA-extraction from *Alicyclobacillus spp.*



**REF: Q701**

Version 01/20

# Simplex<sup>®</sup> Easy Spin

## 1. Verwendungszweck

*Alicyclobacillus* DNA-Extraktion aus z.B. Frucht- und Gemüsesäften, Fruchtkonzentraten und Tomatenprodukten.

## 2. Packungsinhalt

Jedes Kit enthält Reagenzien für 50 Präparationen:

1 x Lysis buffer SES

1 x Binding buffer

3 x Elution buffer

50 x Columns inkl. Collection tubes

## 3. Zusätzlich erforderliches Material

### 3.1. Geräte

- Heizblock oder Wasserbad, 37 °C - 95 °C
- Laborzentrifuge passend für 1,5 – 2,0 mL Reaktionsgefäße
- Pipetten für die Probenaufarbeitung: 10 – 100 µL; 100 – 1000 µL; 0,5 – 10 µL

### 3.2. Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

- sterile safe-seal Reaktionsgefäße 1,5 – 2,0 mL
- passende, sterile Filterspitzen (Filtertips)
- Einweghandschuhe
- ggf. Lysozym
- Ethanol (96-100 %)

## 4. Lagerung

Alle Kitkomponenten bei Raumtemperatur (18-25 °C) lagern. Sollten Pufferbestandteile ausfallen, Lösungen bei 37 °C erwärmen. Die Lösungen sind bei sachgerechter Lagerung 1 Jahr stabil.

**Achtung:** Der Bindepuffer enthält Guanidinhydrochlorid.

## 5. Risiko- und Sicherheitsätze (R & S)

<b>Komponente</b>	<b>Gefahrstoff</b>	<b>Gefahrstoffsymbol</b>	<b>R-Sätze</b>	<b>S-Sätze</b>
Binding buffer	Guanidinhydrochlorid 50 – 66 %	 Warnung	R 22-36/38	S26-37/39

### Risikosätze

R 22           Gesundheitsschädlich beim Verschlucken

R 36/38       Reizt die Augen und die Haut

### Sicherheitsätze

S 26           Bei Berührung mit den Augen gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren

S 37/39       Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen

## 6. Anzeichen für Reagenzienverfall

Bei korrekter Handhabung keine bekannt.

## 7. DNA-Extraktion aus *Alicyclobacillus spp.*

### 7.1 Probenvorbereitung nach der IFU-Methode 12

#### *Nicht-filtrierbare Lösungen:*

- Zugabe von 90 mL BAT-Bouillon zu 10 mL Produkt
- Zur Inaktivierung der vegetativen Zellen und Aktivierung der Sporen die Probe 10 min bei 80 °C inkubieren und anschließend auf 45 °C abkühlen
- Inkubation der Probe (3-7 Tage, aerob bei 45 °C +/- 1 °C)

#### *Filtrierbare Lösungen:*

- Zur Inaktivierung der vegetativen Zellen und Aktivierung der Sporen 100 mL Probe 10 min bei 80 °C inkubieren und anschließend auf 45 °C abkühlen
- Membranfiltration der Probe (0.45 µm Membranfilter)
- Inkubation des Membranfilters in BAT-Bouillon (3-7 Tage, aerob bei 45 °C +/- 1 °C)

### 7.2 Protokoll zur DNA-Extraktion von nicht filtrierbaren Lösungen (z.B. Konzentraten)

- 2 mL vorangereicherte Kultur in ein 2.0 mL Safe-Seal Reaktionsgefäß geben
- 5 min bei 1500 x g zentrifugieren
- den Überstand vollständig abziehen und in ein 1.5 mL safe-seal Reaktionsgefäß überführen
- 5 min bei 18000 x g zentrifugieren
- Den Überstand vollständig entfernen
- das Pellet in 250 µL Lysis buffer SES resuspendieren
- **Optional:** Zugabe von 100 U Lysozym und 30 min bei 65 °C inkubieren
- 30 min bei 95 °C inkubieren
- Zugabe von 240 µL Binding buffer und 160 µL Ethanol
- 10 sec vortexen
- Lysat auf die Säule inkl. Collection tube geben
- 2 min. bei 11000 x g zentrifugieren
- Säule in ein neues 1.5 mL Reaktionsgefäß setzen
- 100 µL Elution buffer (auf 95 °C erhitzt) auf die Säule geben
- 15 min bei Raumtemperatur stehen lassen
- 1 min bei 11000 x g zentrifugieren
- 5 µL der DNA-Suspension in die PCR einsetzen

### 7.3 Protokoll zur DNA-Extraktion von filtrierbaren Lösungen

- 2 mL vorangereicherte Kultur in ein 2.0 mL safe-seal Reaktionsgefäß geben
- 5 min bei 18000 x g zentrifugieren
- Den Überstand vollständig entfernen
- das Pellet in 250 µL Lysis buffer SES resuspendieren
- **Optional:** Zugabe von 100 U Lysozym und 30 min bei 65 °C inkubieren
- 30 min bei 95 °C inkubieren
- Zugabe von 240 µL Binding buffer und 160 µL Ethanol
- 10 sec vortexen
- Lysat auf die Säule inkl. Collection tube geben
- 2 min. bei 11000 x g zentrifugieren
- Säule in ein neues 1.5 mL Reaktionsgefäß setzen
- 100 µL Elution buffer (auf 95 °C erhitzt) auf die Säule geben
- 15 min bei Raumtemperatur stehen lassen
- 1 min bei 11000 x g zentrifugieren
- 5 µL der DNA-Suspension in die PCR einsetzen

Rechtlicher Hinweis: Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. GEN-IAL übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Darüber hinaus gehende Ansprüche für direkte oder indirekte Schäden oder Kosten aus dem Nutzung der Produkte entstehen nicht.

# Simplex<sup>®</sup> Easy Spin

## 1. Intended use

Fast *Alicyclobacillus spp.* DNA extraction from e.g. juices, concentrates and tomato products.

## 2. Content

The kit contains sufficient reagents for 50 preparations:

- 1 x Lysis buffer SES
- 1 x Binding buffer
- 3 x Elution buffer
- 50 x Columns incl. Collection tubes

## 3. Materials required, but not provided

### 3.1. Instruments

- Heating block or water bath 37 °C – 95 °C (98.6 °F – 203 °F)
- Microcentrifuge for 1.5 – 2.0 mL reaction tubes
- Pipettes: 10 – 100 µL, 100 – 1000 µL, 0.5 – 10 µL

### 3.2. Reagents and plastic ware

- sterile safe-seal reaction tubes 1.5 – 2.0 mL
- suitable filter tips
- single use gloves
- optional: lysozyme
- Ethanol (96-100 %)

## 4. Storage

All reagents can be stored at room temperature (18-25 °C, 64.4 °F – 77 °F) and are stable up to one year. If there is any precipitate present in the buffers, warm the buffer to 37 °C (98.6 °F) to dissolve the precipitate before use.

**Attention:** *The binding buffer contains Guanidin hydrochloride.*

## 5. Risk and safety phrases (R & S)

<b>Component</b>	<b>Hazard components</b>	<b>Hazard symbol</b>	<b>Risk phrases</b>	<b>Safety phrases</b>
Binding buffer	Guanidin hydrochloride 50 – 66%	 Warnung	R 22-36/38	S26-37/39

### Risk phrases

R 22                    Harmful if swallowed  
R 36/38                Irritating to eyes and skin

### Safety phrases

S 26                    In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice  
S 37/39                Wear suitable gloves and eye/face protection

## 6. Indications of deterioration of reagents

In case of accurate handling deterioration unknown.

## 7. DNA-Extraction from *Alicyclobacillus spp.*

### 7.1 Sample preparation according to IFU-method 12

*For non filterable solutions:*

- Add 90 mL BAT-Bouillon to 10 mL product
- For inactivation of vegetative cells and activation of spores incubate the sample for 10 min at 80 °C and cool down to 45 °C (113 °F)
- Incubate the sample (3-7 days, aerobe at 45 °C +/- 1 °, 113 °F)

*For filterable solutions:*

- For inactivation of vegetative cells and activation of spores incubate 100 mL sample for 10 min at 80 °C (176 °F) and cool down to 45 °C (113 °F)
- Membrane filtration of the sample (0.45 µm filter)
- Incubate the filter in BAT-Bouillon (3-7 days, aerobe at 45 °C +/- 1 °, 113 °F)

### 7.2 DNA-Extraction protocol for non filterable solutions (e.g. concentrates)

- add 2 mL of the pre-enriched sample in a 2.0 mL safe-seal reaction tube
- centrifuge 5 min at 1500 x g
- transfer 1 mL supernatant in a 1.5 mL safe-seal reaction tube
- centrifuge 3 min at 18000 x g
- discard the supernatant
- resuspend the pellet in 250 µL Lysis buffer SES
- **Optional:** add 100 U Lysozyme and incubate 30 min at 65 °C (149 °F)
- incubate 30 min at 95 °C (203 °F)
- add 240 µL Binding buffer and 160 µL Ethanol
- vortex 10 sec
- transfer the lysate to the column placed in a collection tube
- centrifuge 2 min at 11000 x g
- transfer the column in a new 1.5 mL safe-seal reaction tube
- add 100 µL Elution buffer (preheated to 95 °C, 203 °F) onto the column
- incubate for 15 min at room temperature
- centrifuge 1 min at 11000 x g
- centrifuge 1 min at 11000 x g
- use 5 µL of the eluted DNA for PCR

### 7.3 DNA-Extraction protocol for filterable solutions

- add 2 mL of the pre-enriched sample in a 2.0 mL safe-seal reaction tube
- centrifuge 5 min at 18000 x g
- discard the supernatant
- resuspend the pellet in 250 µL Lysis buffer SES
  - Optional:** add 100 U Lysozyme and incubate 30 min at 65 °C (149 °F)
- incubate 30 min at 95 °C (203 °F)
- add 240 µL Binding buffer and 160 µL Ethanol
- vortex 10 sec
- transfer the lysate to the column placed in a collection tube
- centrifuge 2 min at 11000 x g
- transfer the column in a new 1.5 mL safe-seal reaction tube
- add 100 µL Elution buffer (preheated to 95 °C, 203 °F) onto the column
- incubate for 5 min at room temperature
- centrifuge 1 min at 11000 x g
- use 5 µL of the eluted DNA for PCR

GEN-IAL makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, GEN-IAL will provide a replacement product. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. GEN-IAL shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.