

Simplex[®] Easy Spin

DNA-Extraktion aus *Alicyclobacillus* spp.

DNA-extraction from *Alicyclobacillus* spp.



REF: Q701

Version 01/26

Simplex[®] 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

3.2. Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

sterile safe-lock Reaktionsgefäße 1,5 – 2,0 mL
passende, sterile Filterspitzen (Filtertips)
Einweghandschuhe
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 Sachersheitssätze (R & S)

Komponente	Gefahrstoff	Gefahrstoffsymbol	R-Sätze	S-Sätze
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

Sicherheitssätze

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)

1. 2 mL vorangereicherte Kultur in ein 2,0 mL Safe-lock Reaktionsgefäß geben
2. 5 min bei 400 x g zentrifugieren
3. den Überstand vollständig abziehen und in ein 1,5 mL safe-lock Reaktionsgefäß überführen
4. 5 min bei 15.500 x g zentrifugieren
5. Den Überstand vollständig entfernen
6. das Pellet in 250 µL Lysis buffer SES resuspendieren
7. 30 min bei 95 °C inkubieren
8. Zugabe von 240 µL Binding buffer und 160 µL Ethanol
9. 10 sec vortexen
10. Lysat auf die Säule inkl. Collection tube geben
11. 2 min. bei 11.000 x g zentrifugieren
12. Säule in ein neues 1,5 mL Reaktionsgefäß setzen
13. 100 µL Elution buffer (auf 95 °C erhitzt) auf die Säule geben
14. 15 min bei Raumtemperatur stehen lassen
15. 1 min bei 11.000 x g zentrifugieren
16. 5 µL der DNA-Suspension in die PCR einsetzen

7.3 Protokoll zur DNA-Extraktion von filtrierbaren Lösungen

1. 2 mL vorangereicherte Kultur in ein 2,0 mL safe-lock Reaktionsgefäß geben
2. 5 min bei 15.500 x g zentrifugieren
3. Den Überstand vollständig entfernen
4. das Pellet in 250 µL Lysis buffer SES resuspendieren
5. 30 min bei 95 °C inkubieren
6. Zugabe von 240 µL Binding buffer und 160 µL Ethanol
7. 10 sec vortexen
8. Lysat auf die Säule inkl. Collection tube geben
9. 2 min. bei 11.000 x g zentrifugieren
10. Säule in ein neues 1,5 mL Reaktionsgefäß setzen
11. 100 µL Elution buffer (auf 95 °C erhitzt) auf die Säule geben
12. 15 min bei Raumtemperatur stehen lassen
13. 1 min bei 11.000 x g zentrifugieren
14. 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 der Nutzung der Produkte entstehen nicht.

Simplex[®] 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)

Centrifuge for 1.5 – 2.0 mL reaction tubes

Pipettes

3.2. Reagents and plastic ware

sterile safe-seal reaction tubes 1.5 – 2.0 mL

suitable filter tips

single use gloves

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)

Component	Hazard components	Hazard symbol	Risk phrases	Safety phrases
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)

1. add 2 mL of the pre-enriched sample in a 2.0 mL safe-lock reaction tube
2. centrifuge 5 min at 400 x g
3. transfer 1 mL supernatant in a 1.5 mL safe-seal reaction tube
4. centrifuge 3 min at 15500 x g
5. discard the supernatant
6. resuspend the pellet in 250 µL Lysis buffer SES
7. incubate 30 min at 95 °C (203 °F)
8. add 240 µL Binding buffer and 160 µL Ethanol
9. vortex 10 sec
10. transfer the lysate to the column placed in a collection tube
11. centrifuge 2 min at 11000 x g
12. transfer the column in a new 1.5 mL safe-seal reaction tube
13. add 100 µL Elution buffer (preheated to 95 °C, 203 °F) onto the column
14. incubate for 15 min at room temperature
15. centrifuge 1 min at 11000 x g
16. use 5 µL of the eluted DNA for PCR

7.3 DNA-Extraction protocol for filterable solutions

1. add 2 mL of the pre-enriched sample in a 2.0 mL safe-lock reaction tube
2. centrifuge 5 min at 15500 x g
3. discard the supernatant
4. resuspend the pellet in 250 µL Lysis buffer SES
5. incubate 30 min at 95 °C (203 °F)
6. add 240 µL Binding buffer and 160 µL Ethanol
7. vortex 10 sec
8. transfer the lysate to the column placed in a collection tube
9. centrifuge 2 min at 11000 x g
10. transfer the column in a new 1.5 mL safe-seal reaction tube
11. add 100 µL Elution buffer (preheated to 95 °C, 203 °F) onto the column
12. incubate for 5 min at room temperature
13. centrifuge 1 min at 11000 x g
14. 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.