

Simplex[®] Easy Spin Plus

DNA-Extraktion aus *Alicyclobacillus* spp.
ohne Voranreicherung

DNA-extraction from *Alicyclobacillus* spp.
without preenrichment



REF: Q705

Version 01/26

Simplex[®] Easy Spin Plus

1. Verwendungszweck

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

2. Packungsinhalt

Jedes Kit enthält Reagenzien für 50 Präparationen:

- 1 x Lysis buffer SESP
- 1 x Binding buffer
- 1 x Washing buffer
- 2 x Elution buffer
- 50 x Columns inkl. Collection tubes

3. Zusätzlich erforderliches Material

3.1. Geräte

Heizblock oder Wasserbad, 37 °C - 95 °C
Zentrifuge passend für 1,5 – 2,0 mL Reaktionsgefäße
Pipetten

3.2. Reagenzien und Verbrauchsmaterialien

Polycarbonat-Filter, 50 mm Ø, 0.4 µm
sterile safe-lock Reaktionsgefäße 1,5 – 2,0 mL
passende, sterile Filterspitzen (Filtertips)
Einweghandschuhe
Ethanol (96-100 %)
steriles Wasser

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)

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

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. Vorbereitung

Zum Washing buffer 18 mL 100% ETOH zugeben und mischen

8. DNA-Extraktion aus *Alicyclobacillus spp.* ohne Voranreicherung

Protokoll zur DNA-Extraktion von filtrierbaren Lösungen

1. 0,33 L – 0,5 L Flüssigkeit durch einen 0,4 µm Polycarbonatfilter filtrieren
 - a. Die filtrierbare Menge ist abhängig von der Probenmatrix
2. Zugabe von 50 mL Filtration buffer (Ref. Nr. Q704) und abfiltrieren
3. Zugabe von 50 mL sterilem Wasser und abfiltrieren
4. Den Polycarbonatfilter in ein 1,5 mL steriles safe-seal Reaktionsgefäß geben
5. Zugabe von 300 µL Lysis buffer
6. **Ganz wichtig: der Filter muß vollständig bedeckt sein**
7. Probe ca. 30 sec. vortexen
8. Inkubation für 20 min. bei 95 °C
9. Probe aus dem Heizblock nehmen und 240 µL Binding buffer und 160 µL 100% EtoH Zugabe (*Alternativ: Mischung aus Binding buffer und 100% EtoH herstellen (1,5 Vol : 1 Vol) und 400 µL zur Probe pipettieren*)
10. Probe ca. 10 sec. vortexen
11. Säule in ein leeres 1,5 mL Reaktionsgefäß setzen und komplettes Probenvolumen
 - a. (ca. 700 µL) auf die Säule pipettieren
12. 5 min. bei Raumtemperatur stehen lassen
13. 2 min. bei 10000 x g zentrifugieren
14. Die Säule in ein neues 1,5 mL Reaktionsgefäß setzen
15. 400 µL Washing buffer auf die Säule pipettieren
16. 2 min. bei 10000 x g zentrifugieren
17. Säule in ein neues 1,5 mL Reaktionsgefäß setzen
18. 50 µL Elution buffer (auf 95 °C erhitzt) auf die Säule pipettieren
19. 5 min. bei Raumtemperatur stehen lassen
20. 1 min. bei 10000 x g zentrifugieren
21. Säule verwerfen
22. 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 Plus

1. Intended use

Alicyclobacillus spp. DNA-extraction from e.g. juices, concentrates and tomato products without preenrichment.

2. Content

The kit contains sufficient reagents for 50 preparations:

- 1 x Lysis buffer SESP
- 1 x Binding buffer
- 1 x Washing buffer
- 2 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

Polycarbonate-filter, 50 mm Ø, 0.4 µm

sterile safe-lock reaction tubes 1.5 – 2.0 mL

suitable filter tips

single use gloves

Ethanol (96-100 %)

sterile water

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. Preliminary preparations

Add 18 mL 100% ETOH to the washing buffer and mix

8. DNA-Extraction from *Alicyclobacillus spp.* without preenrichment

DNA-Extraction protocol for filterable solutions

1. filter 0.33 L - 0.5 L of liquid through a 0.4 µm polycarbonate filter
 - a. The filterable quantity depends on the sample matrix
2. add 50 mL filtration buffer (Ref. No. Q704) and filter off
3. add 50 mL sterile water and filter off
4. place the polycarbonate filter in a 1.5 mL sterile safe-lock reaction tube
5. add 300 µL Lysis buffer
 - a. **Very important:** the filter must be completely covered
6. vortex the sample 30 sec.
7. incubate the sample for 20 min. min at 95 °C (203 °F)
8. remove the sample from the heating block, add 240 µL Binding buffer and 160 µL Ethanol
(*alternative: prepare a mixture of Binding buffer and 100% EtoH (ratio 1,5 Vol : 1,0 Vol) and pipette 400 µl of this mixture to the sample*)
9. vortex the sample 10 sec.
10. place the column in an empty 1.5 mL reaction vessel and transfer the complete sample volume (approx. 700 µL) onto the column
11. incubate the sample for 5 min. min at room temperature
12. centrifuge 2 min at 10000 x g
13. transfer the column in a new 1.5 mL reaction vessel
14. pipette 400 µL Washing buffer onto the column
15. centrifuge for 2 min at 10000 x g
16. place the column in a new 1.5 mL safe-lock reaction tube
17. add 50 µL Elution buffer (preheated to 95 °C, 203 °F) onto the column
18. incubate for 5 min at room temperature
19. centrifuge 1 min at 10000 x g
20. discard the column
21. use 5 µL of the eluted DNA for PCR