

CONGEN

SureFood[®] PREP Basic

Art. No. S1052

100 extractions

User Manual

Efficient DNA preparation from food and feed



February 2019

Inhaltsverzeichnis

1	Allgemeines	2
1.1	Beschreibung	2
1.2	Prinzip	2
1.3	Kit-Inhalt und Lagerung	2
1.4	Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien	2
2	Protokoll	3
2.1	Vorbereitungen	3
2.2	Extraktionsprotokoll	3
2.3	Weitere Informationen	4
2.4	Technischer Support	4
2.5	Vertrieb und Bestellung	4
3	Gefahrenhinweise	5

Table of contents

1	General Information	6
1.1	Description	6
1.2	Principle	6
1.3	Kit components and storage	6
1.4	Additionally required equipment and materials	6
2	Protocol	7
2.1	Preparations	7
2.2	Extraction protocol	7
2.3	Product Information	8
2.4	Technical Support	8
2.5	Distribution and ordering	8
3	Safety information	9

1 Allgemeines

1.1 Beschreibung

Dieses Kit dient der Extraktion pflanzlicher und tierischer DNA (Desoxyribonukleinsäure) aus Rohstoffen sowie aus schwach prozessierten Lebens- und Futtermitteln. Es wird ebenfalls empfohlen zur Extraktion tierischer DNA aus stark prozessierten Lebens- und Futtermitteln.

1.2 Prinzip

1. Vorbereitung des Ausgangsmaterials
2. Lyse des Ausgangsmaterials
3. Vorfiltration und Einstellung optimaler Bindungsbedingungen
4. Bindung der DNA an einen Spin Filter
5. Aufreinigung der gebundenen DNA
6. Trocknen des Spin Filters
7. Elution der DNA vom Spin Filter

1.3 Kit-Inhalt und Lagerung

1x Proteinase K	(Code K)	1x Elution Buffer (10 ml)	(Code E)
1x PCR grade water (1,1 ml)	(Code H)	1x Spin Filter, grün (50 x)	(Code F)
1x Lysis Buffer (20 ml)	(Code L)	1x Spin Filter, klar (50 x)	(Code S)
1x Binding Buffer (10 ml)	(Code B)	2x Receiver Tubes 2,0 ml, klar (50 x)	(Code R)
1x Pre-Wash Buffer (60 ml)*	(Code P)	1x Receiver Tubes 1,5 ml, klar (50 x)	(Code T)
1x Wash Buffer (60 ml)*	(Code W)		

* Nach Zugabe von mindestens 96%igem Ethanol (reinst; nicht im Kit enthalten)

Die Komponenten sind zu gleichen Teilen in zwei Verpackungseinheiten aufgeteilt.

Die Proteinase K muss bei -20°C gelagert werden. Alle anderen Bestandteile des Kits sollten bei Raumtemperatur (14-25°C) gelagert werden.

Stellen Sie vor jeder Extraktion sicher, dass alle Bestandteile Raumtemperatur haben. Wenn in den Lösungen Präzipitate erkennbar sind, erwärmen Sie die Lösungen vorsichtig (bis zu 30 °C) um diese zu lösen.

1.4 Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien

- geeignete Geräte für die Probenzerkleinerung und -homogenisierung
- Feinwaage und Spatel zum Einwiegen der Proben
- DNA- und DNase-freie Reaktionsgefäße 1,5 ml; 2,0 ml
- wasserfester Stift und Etiketten zum Beschriften der Reaktionsgefäße
- puderfreie Einmalhandschuhe
- Pipetten und Pipettenspitzen mit Filtern
- Vortexmischer
- Thermomixer/Heizblock (bis 65°C)
- Mikrozentrifuge (bis 12.000 rpm)
- Ethanol (Reinheit ≥ 96 %, reinst) zum Auffüllen von Pre-Wash Buffer und Wash Buffer
- Abwurfbeutel oder ähnliches Abfallbehältnis

Ein Fließschema zur grafischen Unterstützung des Extraktionsprotokolls steht auf der CONGEN-Homepage zur Verfügung: <http://www.congen.de/unternehmen/download>.

2 Protokoll

2.1 Vorbereitungen

Allgemein

- Aufnahme der Proteinase K (**Code K**) durch Zugabe von 1 ml PCR grade water (**Code H**).
- Auffüllen des Pre-Wash Buffers (**Code P**) durch Zugabe von 30 ml Ethanol und mischen.
- Auffüllen des Wash Buffers (**Code W**) durch Zugabe von 42 ml Ethanol und mischen.

Vor jeder Präparation

- Vorwärmen des Elution Buffers (**Code E**) - Überführen der benötigten Menge unter Einrechnung einer Reservemenge an Elution Buffer in ein Reaktionsgefäß (nicht im Kit enthalten). Inkubation bei 65°C. Der Elution Buffer wird in Schritt 7 benötigt.

2.2 Extraktionsprotokoll

1. Vorbereitung des Ausgangsmaterials

Von einer repräsentativen, homogenisierten Probe werden 50 mg in ein 2,0 ml Tube eingewogen (nicht im Kit enthalten). Bei sehr wasserhaltigen Proben sind bis zu 100 mg des Ausgangsmaterials einzusetzen.

2. Lyse des Ausgangsmaterials

Zugabe von 400 µl Lysis Buffer (**Code L**) und 20 µl Proteinase K (**Code K**) zu der Probe. Im Anschluss die Probe auf einem Vortexmischer gut vermischen. Inkubation bei 65°C für 30 min unter kontinuierlichem Schütteln im Thermomixer/Heizblock.

Hinweis: Bei stark quellenden Proben kann es notwendig sein, während der Lyse zusätzlich Lysis Buffer hinzuzufügen.

3. Vorfiltration und Einstellung optimaler Bindungsbedingungen

Zentrifugation des Lysates für 1 min bei 12.000 rpm.

Einen grünen Spin Filter (**Code F – green, for pre-filtration**) in ein klares 2,0 ml Receiver Tube (**Code R**) einsetzen. Den flüssigen Überstand auf den Spin Filter geben.

Zentrifugation für 1 min bei 12.000 rpm. Den verwendeten Spin Filter verwerfen.

Hinweis: Bei nicht-prozessierten tierischen Proben ist die Verwendung des grünen Spin Filters nicht notwendig. Den flüssigen Überstand direkt in ein klares 2,0 ml Receiver Tube (**Code R**) überführen.

4. Bindung der DNA an einen Spin Filter

200 µl des Binding Buffers (**Code B**) zu dem Filtrat geben und gut vermischen.

Einen klaren Spin Filter (**Code S – clear, for binding**) in ein neues klares 2,0 ml Receiver Tube (**Code R**) setzen.

Die komplette Lösung auf den Spin Filter überführen und für 1 min bei Raumtemperatur inkubieren.

Zentrifugation für 1 min bei 12.000 rpm. Filtrat verwerfen und den Spin Filter wieder in das Receiver Tube setzen.

5. Aufreinigung der gebundenen DNA

550 µl Pre-Wash Buffer (**Code P**) auf den Spin Filter geben. Zentrifugation für 1 min bei 12.000 rpm. Filtrat verwerfen und den Spin Filter wieder in das Receiver Tube einsetzen.

Hinweis: Bei nicht-prozessierten tierischen Proben ist die Verwendung des Pre-Wash Buffers nicht notwendig.

550 µl Wash Buffer (**Code W**) auf den Spin Filter geben. Zentrifugation für 1 min bei 12.000 rpm. Filtrat verwerfen und den Spin Filter wieder in das Receiver Tube einsetzen.

Erneut 550 µl Wash Buffer (**Code W**) auf den Spin Filter geben. Zentrifugation für 1 min bei 12.000 rpm. Filtrat verwerfen und den Spin Filter wieder in das Receiver Tube einsetzen.

6. Trocknen des Spin Filters

Zentrifugation für 2 min bei 12.000 rpm, um Ethanolreste von dem Spin Filter zu entfernen.

7. Elution der DNA vom Spin Filter

Den Spin Filter in ein klares 1,5 ml Receiver Tube (**Code T**) setzen.

Zugabe von 100 µl des erwärmten Elution Buffers (**Code E**). Inkubation bei 65°C für 3 min in einem Heizblock/Thermomix (nicht schütteln).

Zentrifugation für 1 min bei 10.000 rpm. Den Spin Filter anschließend verwerfen.

Hinweis: Die DNA kann auch mit einem kleineren oder größeren Volumen an Elution Buffer eluiert werden (je nach erwartetem DNA-Gehalt). Das Mindestvolumen für die Elution sind 50 µl.

Die eluierte DNA kann direkt in die PCR eingesetzt oder bis zu 24 Stunden bei +4°C gelagert werden. Bei längerer Lagerung sollte die DNA bei -20°C aufbewahrt werden.

2.3 Weitere Informationen

- Material Safety Data Sheet
- Validierungsdaten
- Fließschema
(Download: <http://www.congen.de/unternehmen/download>)

2.4 Technischer Support

Fragen zur Durchführung bitte an Ihren Distributor oder per E-Mail an sales@r-biopharm.de.

2.5 Vertrieb und Bestellung

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstrasse 17,
64297 Darmstadt, Germany
Phone: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20
E-Mail: orders@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com



3 Gefahrenhinweise

Lysis Buffer



Achtung
H319 H412
P280 P273 P305+P351+P338

Proteinase K



Gefahr
H315 H319 H334 H335
P280 P305+P351+P338

Binding Buffer



Gefahr
H225 H319 H336
P210 P233 P305+P351+P338

Pre-Wash Buffer



Achtung
H302 H412 EUH032
P280 P273 P305+P351+P338

- H225:** Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H302: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
H315: Verursacht Hautreizungen.
H319: Verursacht schwere Augenreizung.
H334: Kann beim Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.
H335: Kann die Atemwege reizen.
H336: Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
P210: Von Hitze / Funken / offener Flamme / heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen.
P233: Behälter dicht verschlossen halten.
P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.

Für weitere Informationen stellen wir auf Anfrage ein Sicherheitsdatenblatt zur Verfügung. Bitte wenden Sie sich an Ihren Distributor oder per E-Mail an sales@r-biopharm.de.

1 General Information

1.1 Description

This kit is intended to be used for the extraction of animal and plant DNA (deoxyribonucleic acid) from raw materials as well as slightly processed food and feed. It is also recommended for the extraction of animal DNA from highly processed food and feed.

1.2 Principle

1. Preparation of the basic material
2. Lysis of the basic material
3. Pre-filtration and setting of optimal binding conditions
4. Binding of the nucleic acids on a Spin Filter
5. Purification of the bound nucleic acids
6. Drying of the Spin Filter
7. Elution of nucleic acids from the Spin Filter

1.3 Kit components and storage

1x Proteinase K	(Code K)	1x Elution Buffer (10 ml)	(Code E)
1x PCR grade water (1.1 ml)	(Code H)	1x Spin Filter, green (50 x)	(Code F)
1x Lysis Buffer (20 ml)	(Code L)	1x Spin Filter, clear (50 x)	(Code S)
1x Binding Buffer (10 ml)	(Code B)	2x Receiver Tubes 2.0 ml, clear (50 x)	(Code R)
1x Pre-Wash Buffer (60 ml)*	(Code P)	1x Receiver Tubes 1.5 ml, clear (50 x)	(Code T)
1x Wash Buffer (60 ml)*	(Code W)		

* After adding ethanol (purity \geq 96 %, puriss; not supplied with the kit)

The components are equally divided into two boxes.

The Proteinase K should be stored at -20°C . All other reagents of the kit should be stored dry and at room temperature ($14-25^{\circ}\text{C}$).

Before every extraction make sure that all components have room temperature. If there are any precipitates within the provided solutions, solve them by warming carefully (up to 30°C).

1.4 Additionally required equipment and materials

- suitable equipment for sample comminution and homogenization
- micro balance and spatula for weighing the samples
- reaction tubes free from DNA and DNase 1.5 ml; 2.0 ml
- waterproof pen and tags for labeling the reaction tubes
- unpowdered disposable gloves
- pipettes with filter tips
- Vortex mixer
- Thermomixer/ heating block (up to 65°C)
- micro centrifuge (up to 12,000 rpm)
- ethanol (purity \geq 96 %, puriss) for preparation of Pre-Wash Buffer and Wash Buffer
- disposal bags or waste bin

A flow chart for visualization of the extraction protocol is available at the CONGEN homepage:

<http://www.congen.de/en/company/downloads>.

2 Protocol

2.1 Preparations

General

- Add 1 ml PCR grade water (**Code H**) to the Proteinase K (**Code K**) and mix thoroughly.
- Add 30 ml ethanol to the Pre-Wash Buffer (**Code P**) and mix thoroughly.
- Add 42 ml ethanol to the Wash Buffer (**Code W**) and mix thoroughly.

Before each preparation

- Preheating the Elution Buffer (**Code E**) - Transfer the needed amount of Elution Buffer (**Code E**) under calculation of a reserve volume into a reaction tube (not provided with the kit) and equilibrate to 65°C (The Elution Buffer is necessary for step 7).

2.2 Extraction protocol

1. Preparation of the basic material

Transfer 50 mg homogenized sample material into a 2.0 ml reaction tube (not provided with the kit). For samples with high water content it is necessary to take up to 100 mg of the basic material.

2. Lysis of the basic material

Add 400 µl of Lysis Buffer (**Code L**) and 20 µl of Proteinase K (**Code K**) to the reaction tube and mix it briefly. Incubate on a heating block under continuously shaking for 30 minutes at 65°C.

Note: For strongly swelling samples it can be necessary to add additional volume of Lysis Buffer during the lysis.

3. Pre-filtration and setting of optimal binding conditions

Centrifuge the sample lysate for 1 min at 12,000 rpm.

Place a green Spin Filter (**Code F – green, for pre-filtration**) into a clear 2.0 ml Receiver Tube (**Code R**). Transfer the liquid supernatant directly onto the Spin Filter.

Centrifuge the Spin Filter with the Receiver Tube for 1 min at 12,000 rpm. After centrifugation discard the Spin Filter.

Note: For non-processed animal material the usage of the green Spin Filter is superfluous. Transfer the liquid supernatant directly into a clear 2.0 ml Receiver Tube (**Code R**).

4. Binding of the nucleic acids on a Spin Filter

Add 200 µl Binding Buffer (**Code B**) to the filtrate and mix.

Place a clear Spin Filter (**Code S – clear, for binding**) into a new, clear 2.0 ml Receiver Tube (**Code R**). Transfer the complete solution onto the Spin Filter. Incubate at room temperature for 1 min.

Centrifuge the Spin Filter with the Receiver Tube for 1 min at 12,000 rpm. After centrifugation discard the filtrate and place the Spin Filter back into the Receiver Tube.

5. Purification of the bound nucleic acids

Add 550 µl Pre-Wash Buffer (**Code P**) to the Spin Filter and centrifuge at 1 min for 12,000 rpm. Discard the filtrate and place the Spin Filter back into the Receiver Tube.

Note: For non-processed animal material the usage of the Pre-Wash Buffer is superfluous.

Add 550 µl Wash Buffer (**Code W**) to the Spin Filter and centrifuge at 1 min for 12,000 rpm. Discard the filtrate and place the Spin Filter back into the Receiver Tube.

Once more add 550 µl Wash Buffer (**Code W**) to the Spin Filter and centrifuge at 1 min for 12,000 rpm. Discard the filtrate and place the Spin Filter back into the Receiver Tube.

6. Drying of the Spin Filter

Remove the residual ethanol by final centrifugation for 2 min at 12,000 rpm.

7. Elution of nucleic acids from the Spin Filter

Place the Spin Filter into a clear 1.5 ml Receiver Tube (**Code T**) and add 100 µl of the preheated (65°C) Elution Buffer (**Code E**) directly onto the Spin Filter. Incubate on a heating block for 3 min at 65°C (no shaking).

Centrifuge for 1 min at 10,000 rpm. After centrifugation discard the Spin Filter.

Note: The DNA can also be eluted with a lower or a higher volume of Elution Buffer (depending on the expected yield of DNA). The minimum volume for the elution is 50 µl.

The eluted DNA is ready-to-use for the PCR. The DNA can be stored for up to 24 hours at +4°C.

For a storage time of more than 24 hours it should be kept at -20°C.

2.3 Product Information

- Material Safety Data Sheet
 - Validation Report
 - Flow chart
- (Download: <http://www.congen.de/en/company/downloads>)

2.4 Technical Support

For further questions please contact your distributor or send an e-mail to sales@r-biopharm.de.

2.5 Distribution and ordering

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstrasse 17,
64297 Darmstadt, Germany
Phone: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20
E-Mail: orders@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com



3 Safety information

Lysis Buffer



Warning
H319 H412
P280 P273 P305+P351+P338

Proteinase K



Danger
H315 H319 H334 H335
P280 P305+P351+P338

Binding Buffer



Danger
H225 H319 H336
P210 P233 P305+P351+P338

Pre-Wash Buffer



Warning
H302 H412 EUH032
P280 P273 P305+P351+P338

H225:	Highly flammable liquid and vapour.
H302:	Harmful if swallowed.
H315:	Causes skin irritation.
H319:	Causes serious eye irritation.
H334:	May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled.
H335:	May cause respiratory irritation.
H336:	May cause drowsiness or dizziness.
H412:	Harmful to aquatic life with long lasting effects.
EUH032:	Contact with acids liberates very toxic gas.
P210:	Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
P233:	Keep container tightly closed.
P273:	Avoid release to the environment.
P305:	Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P351+P338:	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information we offer a Material Safety Data Sheet. Please contact your distributor or send an e-mail to sales@r-biopharm.de.