

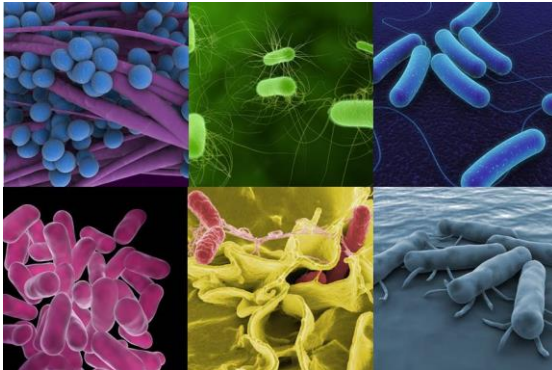
CONGEN

SureFast® PREP Bacteria

Art. No. F1021
100 extractions

User Manual

Efficient DNA preparation of bacteria



October 2024

**Inhalt**

1	Allgemeines	3
1.1	Beschreibung.....	3
1.2	Kit-Inhalt und Lagerung	3
1.3	Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien	3
2	Protokoll	4
2.1	Prinzip	4
2.2	Vorbereitungen	4
2.3	Extraktionsprotokoll	4
	1. Vorbereitung des Ausgangsmaterials	4
	2. Lyse des Ausgangsmaterials	4
	3. Einstellung optimaler Bindungsbedingungen	5
	4. Bindung der Nucleinsäuren an einen Spin Filter	5
	5. Aufreinigung der gebundenen Nucleinsäuren	5
	6. Trocknen des Spin Filters	5
	7. Elution der Nucleinsäuren vom Spin Filter	5
3	Weitere Informationen	5
3.1	Weitere Dokumente und Hilfsmittel	5
3.2	Technischer Support	5
4	Gefahrenhinweise	6



Content

- 1 General Information7
- 1.1 Description7
- 1.2 Kit components and storage7
- 1.3 Additionally required equipment and materials7
- 2 Protocol8
- 2.1 Principle8
- 2.2 Preparations8
- 2.3 Extraction protocol8
 - 1. Preparation of the basic material8
 - 2. Lysis of the basic material8
 - 3. Pre-filtration and setting of optimal binding conditions.....9
 - 4. Binding of the nucleic acids on a Spin Filter9
 - 5. Purification of the bound nucleic acids9
 - 6. Drying of the Spin Filter9
 - 7. Elution of nucleic acids from the Spin Filter9
- 3 Further Information9
- 3.1 Product Information9
- 3.2 Technical Support9
- 4 Safety information10

1 Allgemeines

1.1 Beschreibung

Dieses Kit dient der Extraktion von Bakterien - DNA aus Lebensmitteln (Anreicherungen, Abschwemmungen oder Abstrichen).

In Proben mit geringer mikrobiologischer Aktivität (z.B. hitzebehandeltes Eiweißpulver) können auch nicht lebensfähige Bakterien nachgewiesen werden. Diese Zellen würden unter anderen Bedingungen von der Begleitflora metabolisiert werden.

Um das Wachstumspotenzial des Bakteriums besser beurteilen zu können, wird empfohlen, die Proben zu Beginn und am Ende der kulturellen Anreicherung zu analysieren.

1.2 Kit-Inhalt und Lagerung

Kit Code	Reagenz/Material	Menge (je Box)
L	Lysis Buffer	1 x 25 ml
B	Binding Buffer*	1 x 4 ml
W	Wash Buffer**	1 x 18 ml
E	Elution Buffer	1 x 10 ml
S	Spin Filter	1 x 50 Filter
R	Receiver Tubes 2,0 ml	1 x 50 Tubes
T	Receiver Tubes 1,5 ml	1 x 50 Tubes

* Zugabe von Isopropanol (nicht im Kit enthalten, siehe 1.3 Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien)

** Zugabe von Ethanol (nicht im Kit enthalten, siehe 1.3 Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien)

Die Bestandteile des Kits sollten bei Raumtemperatur (14-25°C) gelagert werden.

1.3 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 99°C)
- Mikrozentrifuge (bis 12.000 rpm)
- Ethanol zum Auffüllen des Wash Buffer (reinst, ≥ 96%)
- Isopropanol zum Auffüllen des Binding Buffer, (z.B. Carl Roth 2-Propanol Rotipuran® >99,7 %; Applichem 2-Propanol für Mikrobiologie; Sigma-Aldrich 2-Propanol)
- Abwurfbeutel oder ähnliches Abfallbehältnis
- Autoklav
- Sicherheitswerkbank

2 Protokoll

2.1 Prinzip

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

2.2 Vorbereitungen

Allgemein

Auffüllen des Binding Buffers (**Code B**) durch Zugabe von 11 ml Isopropanol 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 60°C. Der Elution Buffer wird in Schritt 7 benötigt.

2.3 Extraktionsprotokoll

1. Vorbereitung des Ausgangsmaterials

Unter sterilen Bedingungen 1,0 ml einer Anreicherung oder Abschwemmung entnehmen und in ein 1,5 ml Reaction Tube (nicht im Kit enthalten) überführen.

Zentrifugation für 5 min bei 12.000 rpm.

Flüssigen Überstand vorsichtig abpipettieren und z.B. durch Autoklavieren inaktivieren.

Bei Abstrichen (Tupfer), diese in ein 1,5 ml Reaction Tube (nicht im Kit enthalten) überführen und den Schaft abschneiden, damit der Deckel des Tubes geschlossen werden kann.

2. Lyse des Ausgangsmaterials

Zugabe von 400 µl Lysis Buffer (**Code L**) zu der Probe. Im Anschluss die Probe auf einem Vortexmischer gut vermischen und die Reaktionsgefäße mit einer Klammer verschließen.

Inkubation bei 99°C für 10 min unter kontinuierlichem Schütteln im Thermomixer/Heizblock.

3. Einstellung optimaler Bindungsbedingungen

Zentrifugation des Lysates für 1 min bei 12.000 rpm.

Überführen von ca. 300 µl des flüssigen Überstands (Lysat) in ein neues 1,5 ml Reaction Tube (nicht im Kit enthalten).

Hinweis: In Abhängigkeit von den Matrixeigenschaften kann das Volumen nach der Zentrifugation geringer ausfallen. In diesem Fall das erhaltene Volumen einsetzen oder das Volumen des Lysis Buffer vor der Lyse erhöhen.

4. Bindung der Nucleinsäuren an einen Spin Filter

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

Einen Spin Filter (**Code S**) in ein neues 2,0 ml Receiver Tube (**Code R**) setzen.

Das Probenextrakt 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 Nucleinsäuren

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 Nucleinsäuren vom Spin Filter

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

Zugabe von 100 µl des erwärmten Elution Buffers (**Code E**). Inkubation für 3 min bei Raumtemperatur.

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

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.

3 Weitere Informationen

3.1 Weitere Dokumente und Hilfsmittel

- Validierungsdaten auf Anfrage
- Material Safety Data Sheet (Download: www.congen.de/eifu/)

3.2 Technischer Support

Bei Fragen zur Durchführung wenden sie sich bitte per E-Mail an info@congen.de.

4 Gefahrenhinweise

Lysis Buffer



Achtung

H319-H412-P264-P273
P280-P305+P351+P338-
P337+P313-P501

- H319:** Verursacht schwere Augenreizung.
- H412:** Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
- P264:** Nach Gebrauch Hände, Arme und Gesicht gründlich waschen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
- 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.
- P337+P313:** Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- P501 :** Inhalt/Behälter gemäß der örtlichen, regionalen, nationalen und/oder internationalen Vorschriften bei einer Sammelstelle für gefährliche Abfälle oder Sondermüll entsorgen.

Für weitere Informationen steht das Sicherheitsdatenblatt auf www.congen.de/eifu/ zur Verfügung.
Alternativ wenden Sie sich per E-Mail an info@congen.de.

1 General Information

1.1 Description

The kit is intended to be used for the isolation of bacteria - DNA from food (enrichments, avulsions and swabs).

In samples with a very low microbial activity (e.g. heat pasteurized egg white powder) the detection of not viable or not culturable bacteria cells is possible. In case of other conditions the samples show a fast metabolization of these cells.

To assess the process of bacterial growth, it is recommended to compare the samples at the beginning and at the end of the culturing.

1.2 Kit components and storage

Kit Code	Reagent /Material	Amount (per box)
L	Lysis Buffer	1 x 25 ml
B	Binding Buffer*	1 x 4 ml
W	Wash Buffer**	1 x 18 ml
E	Elution Buffer	1 x 10 ml
S	Spin Filter	1 x 50 Filter
R	Receiver Tubes 2,0 ml	1 x 50 Tubes
T	Receiver Tubes 1,5 ml	1 x 50 Tubes

* Add isopropanol (not supplied with the kit, see 1.3 Additionally required equipment and materials)

**Add ethanol (not supplied with the kit, see 1.3 Additionally required equipment and materials)

All reagents of the kit should be stored dry and at room temperature (14-25°C).

1.3 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 99°C)
- micro centrifuge (up to 12,000 rpm)
- ethanol for preparation of Wash Buffer (puriss, purity \geq 96%)
- isopropanol for preparation of Binding Buffer (e.g. Carl Roth 2-Propanol Rotipurán® >99.7 %; AppliChem 2-Propanol for microbiology ; Sigma-Aldrich 2-Propanol)
- disposal bags or waste bin
- autoclave
- biological safety cabinet

2 Protocol

2.1 Principle

1. Preparation of the basic material
2. Lysis of the basic material
3. 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

2.2 Preparations

General

Add 11 ml isopropanol to the Binding Buffer (**Code B**) 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 under calculation of a reserve volume into a reaction tube (not provided with the kit).

Equilibrate the Elution Buffer to 60°C. The Elution Buffer is necessary for step 7.

2.3 Extraction protocol

1. Preparation of the basic material

Transfer 1.0 ml of the enrichment or avulsions under sterile conditions into a 1.5 ml reaction tube (not provided with the kit).

Centrifuge for 5 min at 12.000 rpm.

Discard the fluid and inactivate per sterilization.

For swabs, place them into a 1.5 ml reaction tube (not provided with the kit) and cut the shaft, so that you can close the cap of the extraction tube.

2. Lysis of the basic material

Add 400 µl of Lysis Buffer (**Code L**) to the reaction tube and mix it briefly and close the reaction tube with caps.

Incubate on a heating block under continuously shaking for 10 minutes at 99°C.

3. Setting of optimal binding conditions

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

Transfer ca. 300 µl of the liquid supernatant into a new 1.5 ml reaction tube (not supplied with the kit).

Note: Depending on the nature of the sample a smaller amount of liquid may be obtained after centrifugation. In this case take the actual volume for the following steps or vary the volume of the Lysis Buffer before lysis.

4. Binding of the nucleic acids on a Spin Filter

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

Place a Spin Filter (**Code S**) into a new 2.0 ml Receiver Tube (**Code R**). Transfer the 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 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 Elution Buffer (**Code E**) directly onto the Spin Filter.

Incubate for 3 min at room temperature.

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

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.

3 Further Information

3.1 Product Information

- Validation data upon request
- Material Safety Data Sheet (Download: www.congen.de/en/eifu/)

3.2 Technical Support

For further questions please send an e-mail to info@congen.de.

4 Safety information

Lysis Buffer



Warning

H319-H412-P264-P273
P280-P305+P351+P338-
P337+P313-P501

- H319:** Causes serious eye irritation.
- H412:** Harmful to aquatic life with long lasting effects.
- P264:** Wash hands, forearms and face thoroughly after handling.
- P273:** Avoid release to the environment.
- P280:** Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection/hearing protection.
- P305+P351+P338:** IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
- P337+P313:** If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
- P501 :** Dispose of contents/container to hazardous or special waste collection point, in accordance with local, regional, national and/or international regulation

For further information we offer a Material Safety Data Sheet, see at www.congen.de/en/eifu/.
Alternatively Please contact your distributor or send an e-mail to info@congen.de.