کیت استخراج نوکلئیک اسید از ژل آگارز بر پایه ستون سیلیکا

Cat. No: SBL15-1615

توضیحات محصول

کیت SimEX Gel Extraction ابزاری عالی برای استخراج DNA با خلوص بالا از نمونه های ژل ران شده در بافر TAE یا TBE طراحی شده است. فرآیند خالص سازی پرایمرها، نوکلئوتیدها، آنزیم ها، روغن معدنی، نمک ها، آگارز، اتیدیوم بروماید و سایر ناخالصی ها را از نمونه های DNA حذف می کند. روش استخراج مبتنی بر فناوری غشای سیلیکا و برای اتصال DNA در نمک زیاد و شستشو در بافر کم نمک است. این کیت یک روش ساده و کارآمد برای خالص سازی DNA در محدوده اندازه بین ۲۰۰ جفت باز تا ۱۰ کیلوبایت ارائه می دهد نرخ بازیابی بالا و پایدار را تضمین می کند. DNA تخلیص شده برای طیف گسترده‌ای از کاربردهای مختلف بیولوژی مولکولی از جمله کلونینگ، PCR ، تعیین توالی، تعیین ژنوتایپ، و انواع هیبریدیزاسیون همچون Southern blotting مناسب است.

مواد تشکیل‌دهنده این کیت فاقد ترکیبات فنولی بوده و در نتیجه نگرانی‌های زیستی ناشی از پسماندهای کیت کمتر از روشهای مبتنی بر ترکیبات فنولی است.

محتویات کیت:

اجزا	عنوان برچسب	مقادیر در کیت ۵۰ تستی	مقادیر در کیت ۱۰۰ تستی
بافر لیزکننده	SGL	30 ml	2*30 ml
بافر شستشو شماره	SGW	35 ml	2*35 ml
بافر آزاد سازی	SGE	10 ml	20 ml
spin columns	spin columns	50 pieces	100 pieces
Collection tubes	Collection tubes	50 pieces	100 pieces
راهنمای کاربری		1	1

نکات مهم قبل از شروع کار:

تمام بافر ها قبل از استفاده باید از نظر وجود رسوب مورد بررسی قرار بگیرند. در صورت وجود رسوب در محلول لیز باید بافر در حمام آبی ۵۰ درجه سانتی گراد قرار بگیرد تا این رسوبات به طور کامل حل شود.

قبل از شروع پروسه استخراج، هات پلیت یا حمام آب گرم را در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد برای مرحله اول تنظیم کنید.

برای افزایش غلظت DNA استخراج شده، محلول SGE را تا رسیدن به دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد روی هات پلیت یا حمام آب گرم قرار دهید.

نکته: دقت شود که حجم اتانول موردنیاز برای محلول شست‌شوی SGW افزوده شده است.

پروتکل

الف) جدا کردن ژل

۱. ناحیه ژل حاوی قطعه DNA را برش دهید.

۲. ژل جدا شده را به یک میکروتیوب تمیز ۱,۵ میلی لیتری منتقل کنید.

ب) آماده سازی نمونه

۳. به اندازه ۳ برابر وزن ژل آگاروز، بافر استخراج (SGL) به میکروتیوب اضافه کنید. به عنوان مثال، ۳۰۰ میکرولیتر بافر SGL را به ازای ۱۰۰ میلی گرم ژل اضافه کنید. برای ژل های حاوی بیش از ۲,۵ درصد آگارز، ۶ برابر وزن ژل آگاروز بریده شده بافر SGL اضافه کنید.

۴. نمونه را در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه با ورتکس گهگاهی برای اطمینان از حل شدن ژل انکوبه کنید.

- در صورتیکه هنوز ژل حل نشده باقی مانده بود انکوباسیون را ادامه دهید.
- توجه شود که حل شدن کامل ژل برای کارایی کیت اثر حیاتی دارد و در صورت وجود قطعه حل نشده ژل کیت عملکرد مناسبی نخواهد داشت.

۵. به ازای هر ۱۰۰ میلی گرم ژل، ۱۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانل به محلول اضافه کنید و سپس چندین مرتبه پیپتاژ کنید تا محلول کاملا یکنواخت شود.

- برای خالص سازی قطعات DNA با اندازه های کوچکتر از ۲۰۰ جفت باز یا بزرگتر از ۵ کیلوباز ، مقدار ایزوپروپانول را به ۲ برابر حجم ژل افزایش دهید.

پ) بارگیری ستون

۶. به تعداد نمونه، ستون بر روی کالکشن تیوب قرار دهید و سپس به آرامی محلول ژل بدست آمده از مرحله ۵ را به ستون مربوط به هر نمونه انتقال دهید و به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۱۰۰۰ RPM سانتریفیوژ کنید.

۷. محلول زیرین را دور بریزید و سپس ستون را به کالکشن جدید منتقل کنید.

- در صورتیکه حجم محلول لیز بیشتر از گنجایش ستون بود مرحله ۶و ۷را دوبار تکرار کنید

ت) از بین بردن آلودگی‌ها

۸. مقدار ۷۰۰ میکرولیتر بافر SGW را به ستون اضافه کنید. ستون را به مدت ۱ دقیقه با سرعت۱۱۰۰۰ RPM سانتریفیوژ کنید. ستون را به یک کالکشن جدید منتقل کنید

۹. اختیاری: مرحله 8 را تکرار کنید. فقط برای قطعات بزرگتر از ۲۰۰ جفت باز و در صورت نیاز به DNA بسیار خالص برای توالی‌یابی DNA، ترانسفکشن و غیره توصیه می شود.

- در صورتیکه قصد دارید مرحله ۸ را دوبار تکرار کنید در هر مرحله ۵۰۰ میکرولیتر بافر SGW به ستون اضافه کنید

ث)آزاد سازی DNA ژنومی

۱۰. ستون را به یک میکروتیوبml ۱,۵ استریل منتقل کرده و مقدار ۵۰-۳۰ میکرولیتر از محلول SGE (که به دمای ۵۷ درجه رسانیده شده است) به مرکز ممبران ستون اضافه کنید و به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید.

- دقت کنید که محلول به مرکز فیلتر اضافه شود، همچنین از تماس نوک سر سمپلر به فیلتر اجتناب نمایید.

۱۱. ستون را به مدت ۲ دقیقه با سرعت RPM ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ کنید.

- به منظور افزایش میزان کارایی استخراج و افزایش میزان DNA بازیابی شده محلول حاصل از مرحله ۱۱ را مجدد به ستون منتقل کرده و پس از یک دقیقه انکوباسیون در دمای محیط سانتریفیوژ مرحله ۱۱ را تکرار کنید.

۱۲. ستون را دور انداخته و میکروتیوب ml ۱,۵ حاوی ژنوم استخراج شده را جهت واکنش بعدی استفاده کنید و یا برای ذخیره سازی به ۲۰- درجه سانتی گراد منتقل نمایید.

آدرس:ایران، مشهد، پژوهشکده بوعلی،اتاقهای تمیز مرکز رشدفناوری سلامت

همراه: ۰۷ ۱۴ ۳۸۳ ۹۱۵ ۹۸+

تلفن:۴۹۵ ۵۵ ۳۷۲ ۹۸+

Web address: www.simbiolab.co

E-mail: info@simbiolab.co