Bacterial DNA Isolation Kit

Cat. No.: S-1035-5; 5 applications
Cat. No.: S-1035; 25 applications
Cat. No.: S-1035-1; 50 applications

DENA ZIST ASIA
MOLECULAR BIOLOGY PRODUCTS
www.denazist.ir

معرفی و کاربردها:

کیت حاضر برای استخراج DNA ژنومیک از باکتری‌های گرم منفی و مثبت در شرایط کشت یا موجود در مایعات و ترشحات بدن از جمله بزاق، ادرار، شیره شکمبه و ... طراحی شده است. با استفاده از این کیت می‌توان DNA ژنومیک را در کوتاه‌ترین زمان و با بالاترین کیفیت استخراج کرد. DNA استخراج‌شده می‌تواند در بسیاری از واکنش‌های پائین دست از جمله PCR، تعیین توالی، تعیین ژنوتایپ، و هضم مورد استفاده قرارگیرد.

VERSION: Sept 2023

قبل از اولین استفاده:

در کیت‌های۵ عددی به محلول DB3 به میزان ۳.۶ میلی‌لیتر،در کیت‌های ۲۵ عددی به محلول DB3 به میزان ۱۸ میلی‌لیتر، و در کیت‌های ۵۰ عددی به محلول DB3 به میزان ۳۶ میلی‌لیتر اتانول اضافه کنید. مطمئن شوید که ظرفی که به آن اتانول اضافه کردید به طرز مناسب و مشخصی لیبل‌گذاری شود.

پروتکل استخراج DNA ژنومیک از باکتری:

مطمئن شوید که به محلول DB3 قبل از اولین استفاده مقادیر مناسب اتانول اضافه شده است.

-------PREPARATION & DNA RELEASE -------

۱. ۰/۷ میلی‌لیتر بافر **DB1** به لوله هموژنایزر ۲ میلی لیتری اضافه کنید. به آن ۷ میکرولیترِ ۲-مرکاپتواتانول اضافه کنید و مخلوط کنید.

۲. ۲ میلی‌لیتر مایعات ترشحی یا یک میلی‌لیتر از کشت مایع باکتری را در داخل یک تیوب میکروسانتریفیوژ ۲ میلی‌لیتری با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ کنید. سپس همه مایع رویی را دور بیندازید.

۳. پلت حاصله را در ۷۰۰ میکرولیتر از محلول مرحله۱ (DB1 به همراه ۲-مرکاپتواتانول) حل کنید. چند بید شیشه‌ای را به میکروتیوب اضافه کنید و با بالاترین سرعت ورتکس کنید (۵ دقیقه برای باکتری‌های گرم منفی و ۱۰ دقیقه برای باکتری‌های گرم مثبت).

۴. به میکروتیوب، ۱۰ میکرولیتر **RNase A** اضافه کنید. پس از مخلوط کردن، میکروتیوب را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه انکوبه کنید

۵. به میکروتیوب، ۱۰ میکرولیتر **Proteinase K** اضافه کنید. پس از مخلوط کردن، میکروتیوب را در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه کنید (۲۰ دقیقه برای باکتری‌های گرم منفی و ۶۰ دقیقه برای باکتری‌های گرم مثبت).

۶. لوله را به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، محلول فوقانی را به یک میکروتیوب جدید ۲ میلی لیتری منتقل کنید.

۷. به این میکروتیوب، ۷۰۰ میکرولیتر از بافر **DB2** اضافه و مخلوط کنید. سپس به میزان حجم اولیه (۷۰۰ میکرولیتر)، از اتانول به آن اضافه کرده و دوباره مخلوط کنید.

--DNA BINDING TO THE COLUMN--

۸. از محلول حاصله ۷۰۰ میکرولیتر را به داخل ستونِ قرارگرفته در لوله جمع‌کننده‌اش (هر دو در کیت موجود می‌باشد) مَنتقل کنید. سپس به مدت یک دقیقه در ۱۰.۰۰۰rpm در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ کنید. مایع جمع‌شده در لوله جمع‌کننده را دور بریزید و دوباره ستون را در داخل لوله جمع‌کننده‌اش قرار دهید.

۹. مرحله ۸ را تکرار کنید تا تمامی محلول را از ستون عبور داده باشید.

-------WASHING-------

۱۰. به داخل ستون ۷۰۰ میکرولیتر از محلولِ **DB3** اضافه کنید. ستون و لوله جمع‌کننده‌اش را به مدت یک دقیقه در ۱۰.۰۰۰rpm در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ کنید. مایع جمع‌شده در لوله جمع‌کننده را دور بریزید.

۱۱. به داخل ستون ۵۰۰ میکرولیتر از محلول DB3 اضافه کنید. دوباره به مدت یک دقیقه در ۱۰.۰۰۰rpm در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ کنید و سپس مایع جمع‌شده در لوله جمع‌کننده را دور بریزید.

۱۲. ستون و لوله جمع‌کننده‌اش را بار دیگر بدون اضافه نمودن هیچ محلولی به مدت ۵ دقیقه در ۱۳.۰۰۰rpm در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ کنید.

-------ELUTION-------

۱۳. ستون را از لوله جمع‌کننده جدا کرده و آن را در داخل یک تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری قرار دهید.

۱۴. از محلول **DB4**، به میزان ۵۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر به مرکز ستون اضافه کنید. لوله را به مدت ۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه کنید. ستون و تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری را به مدت ۱ دقیقه در ۱۰.۰۰۰rpm در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ کنید.

۱۵. مایع جمع‌شده در تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری را به داخل ستون برگردانید و پس از گذشت ۳ دقیقه در ۱۳.۰۰۰rpm به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ کنید.

۱۶. مایع جمع‌شده در تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی DNA ژنومیک است. آن را در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمائید. ◢

حمل‌ونقل محیط
نگهداری طولانی مدت: ۴ تا ۸ درجه (به جز آنزیم که باید در منفی ۲۰ نگهداری شود)
استفاده فقط برای مصارف تحقیقاتی
این محصول موازین کنترل کیفی را گذرانده است.

Kit components:
Buffers: DB1, DB2, DB3, DB4
Enzymes: RNase A, Proteinase K
Spin Columns
Glass beads