Gel Extraction Kit

Cat. No.: S-1050; 25 applications
Cat. No.: S-1050-1; 50 applications

DENA ZIST ASIA
MOLECULAR BIOLOGY PRODUCTS
www.denazist.ir

معرفی و کاربردها:

این کیت برای استخراج سریع و ساده اسیدهای نوکلئیک از ژل کاربرد دارد. توسط این کیت می‌توان اسیدهای نوکلئیک را از آگارز معمولی یا آگارز با درجه ذوب پائین جدا نمود. نوع بافر استفاده‌شده اعم از TBE یاTAE، بر کارآیی کیت تاثیری نمی‌گذارد. میزان و کیفیت بالای DNA استخراج‌شده توسط این کیت در کاربردهای مختلف بیولوژی مولکولی مورد آزمون قرارگرفته است. این موارد عبارتند از:

PCR and qPCR, Transfection, Plasmid subcloning, in vitro transcription, Sanger sequencing

VERSION: Nov 2021

قبل از اولین استفاده:

در کیت‌های ۲۵ عددی به محلول GR2 به میزان ۱۲ میلی‌لیتر، و در کیت‌های ۵۰ عددی به میزان ۲۴ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ تا ۱۰۰ درصد اضافه کنید و لیبل روی درب ظرف را علامت گذاری کنید.

پروتکل بازیابی اسید نوکلئیک از ژل:

مطمئن شوید که به محلول GR2 قبل از اولین استفاده مقادیر مناسب اتانول اضافه شده است.

۱. به یک میکروتیوب ۱/۵میلی‌لیتری، مقدار کمی از محلول GR3 اضافه کنید و آن را برای استفاده در مرحله آخر این پروتکل در بن‌ماری ۶۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه کنید.

DNA RELEASE FROM GEL & BINDING TO THE COLUMN

۲. نمونه های اسید نوکلئیک خود را بر روی ژل آگارز برانید. یک لوله اپندورف را وزن کنید و وزن آن را یادداشت کنید. بر روی یک ترانس ایلومیناتور باند موردنظر خود را در ژل شناسایی کنید و آن را با یک تیغه اسکالپل تمیز بردارید. رعایت کنید که میزان ژل بریده‌شده از اطراف و زیر باند به حداقل برسد. ژل بریده‌شده را در لوله اپندورف قرار دهید و وزن آن را محاسبه کنید. در این پروتکل هر ۱۰۰ میلی‌گرم ژل معادل ۱۰۰ میکرولیتر حجم محاسبه می‌شود.

۳. هم حجم ژل از محلول **GR1** به لوله اضافه کنید. برای مثال به حجم ۱۴۰ میلی‌گرمی (معادل ۱۴۰ میکرولیتر) ژل، ۱۴۰ میکرولیتر از این محلول اضافه کنید. اگر غلظت آگارز مورد استفاده بیش از ٪۲ است، حجم محلول **GR1** را ۶ برابر کنید. لوله را به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه انکوبه کنید. در طول این مدت هرازگاهی لوله را ورتکس کنید. مطمئن شوید که ژل کاملا حل شده است. در غیراین‌صورت انکوباسیون را طولانی‌تر کنید.

۴. هنگامی که ژل حل شد، ۱۰ میکرولیتر از محلول استات سدیم (**Na acetate**) به آن اضافه کنید. هم حجم ژل از اتانول ۹۶ تا ۱۰۰ درجه اضافه کنید و مخلوط کنید.

۵. تمامی محلول را به ستون جداسازی (spin column) که در داخل تیوب جمع‌کننده قرارداده‌اید، منتقل کنید. تیوب را با سرعت ۸.۰۰۰rpm به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، مایع جمع‌شده در تیوب جمع‌کننده را دور بریزید.

WASHING

۶. ستون را مجددا در تیوب جمع‌کننده قرار دهید. از محلول **GR2** به میزان ۷۰۰ میکرولیتر به ستون اضافه کنید و پس از انکوباسیون به مدت ۲ دقیقه در دمای آزمایشگاه آن را به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۰.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، مایع جمع‌شده در تیوب جمع‌کننده را دور بریزید.

۷. بدون اضافه نمودن هیچ محلولی، آن را بالاترین سرعت (۱۳.۰۰۰-۱۴.۰۰۰rpm) به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کنید.

ELUTION

۸. ستون را به داخل یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال دهید. به داخل ستون ۴۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر از محلول **GR3** گرم‌شده اضافه کنید و آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه کنید. سپس میکروتیوب را به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۰.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید.

نکته مهم: **میزان محلول GR3 در این مرحله غلظت نهایی را تعیین خواهد کرد. برای رسیدن به غلظت‌های بالاترِ بازیابی، از حجم کمتر GR3 در این مرحله استفاده کنید.**

۹. مایع جمع‌شده در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری را به داخل ستون برگردانید و پس از گذشت ۴ دقیقه در دمای اتاق، تیوب را به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید.

۱۰. ستون را دور بریزید. مایع جمع‌شده در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی اسید نوکلئیک است. آن را در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمائید. ◢

Kit components:
Buffers: GR1, GR2,GR3
Na acetate
Spin Columns

حمل: دمای محیط
نگهداری: دمای اتاق
استفاده: فقط برای مصارف تحقیقاتی
این محصول موازین کنترل کیفی را گذرانده است.