DENAzist Gel-Max-Extract Kit

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

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 2024

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.

www.denazist.ir

پروتکل بازیابی اسید نوکلئیک از ژل:

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

DNA RELEASE FROM GEL & BINDING TO THE COLUMN

۱. نمونه های اسید نوکلئیک خود را بر روی ژل آگارز برانید. یک لوله اپندورف 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.

۲. سه برابر حجم ژل از محلول **GR1** به لوله اضافه کنید. برای مثال به حجم ۱۰۰ میلی‌گرمی (معادل ۱۰۰ میکرولیتر) ژل، ۳۰۰ 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 ۱۰ دقیقه در دمای ۵۰ 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.

۳. هنگامی که ژل حل شد، به اندازه یک بیستم حجم ژل و بافر اضافه شده، از محلول استات سدیم (**Na acetate**) به آن اضافه کنید. برای مثال به ۱۰۰ میلی گرم ژل و ۳۰۰ میکرولیتر بافر GR1، بیست میکرولیتر استات سدیم اضافه کنید.

۴. به اندازه نیمی از حجم ژل و بافر، اتانول ۹۶ تا ۱۰۰ درجه اضافه کنید و مخلوط کنید. برای مثال به ۱۰۰ میلی گرم ژل و ۳۰۰ میکرولیتر بافر GR1، دویست میکرولیتر اتانول اضافه 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 ۱ 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 در دمای آزمایشگاه آن را به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۸.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، مایع جمع‌شده در تیوب جمع‌کننده را دور بریزید.

۷. بدون اضافه نمودن هیچ محلولی، آن را با 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 ۵۰ میکرولیتر از محلول **GR3** اضافه کنید و آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه کنید. سپس میکروتیوب را به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm 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. 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	25 app.	50 app.
GR1 buffer	12.5 ml	25 ml
GR2 buffer	9 ml	18 ml
GR3 buffer	3 ml	6 ml
Na Acetate solution	0.7 ml	1.4 ml
Spin column	25	50

Store all components at room temperature.
Expiry date: 18 month from the date of manufacture

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