Blood DNA Isolation Kit

Cat. No.: S-1031-5; 5 applications
Cat. No.: S-1031; 25 applications
Cat. No.: S-1031-1; 50 applications
Cat. No.: S-1031-250; 250 applications

DENA ZIST ASIA
MOLECULAR BIOLOGY PRODUCTS
www.denazist.ir

معرفی و کاربردها:

این کیت برای استخراج DNA ژنومی از خون کامل (سیتراته، هپارینه، دارای EDTA) و انواع سلول‌های کشت داده‌شده جانوری کاربرد دارد. در حین استخراج توسط این کیت، DNA با کارآیی بسیار بالا از پروتئین‌ها و RNA جدا می‌شود. میزان و کیفیت بالای DNA استخراج‌شده توسط این کیت برای انواع کاربردهای بیولوژی مولکولی، از جمله Next generation sequencing و Genotyping مورد آزمون کیفی و کمی قرار گرفته است.

VERSION: Sept 2023

قبل از اولین استفاده:

در کیت‌های ۵، ۲۵، و ۵۰ عددی به محلول BD3 به ترتیب میزان ۲.۴، ۱۲ و ۲۴ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ تا ۱۰۰ درصد اضافه کنید. در کیت‌های ۲۵۰ عددی به میزان ۶۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ تا ۱۰۰ درصد به هر ظرف BD3 اضافه کنید. مطمئن شوید که ظرف حاوی BD3 و اتانول لیبل‌گذاری شده باشد.

پروتکل استخراج:

مطمئن شوید که ظرف حاوی BD3 حاوی اتانول می‌باشد.

۱. به یک میکروتیوب ۱/۵میلی‌لیتری، ۵ میکرولیتر **Proteinase K** اضافه کنید.

۲. یکی از موارد "a" یا "b" را اجرا کنید.

a . استخراج از نمونه خون: ۳۰۰ میکرولیتر خون کامل به میکروتیوب اضافه کنید. به مدت ۵ ثانیه مخلوط کنید.

b . استخراج از سلول‌های کشت داده‌شده جانوری: ۳۰۰ میکرولیتر PBS حاوی سلول را به میکروتیوب اضافه کنید. به مدت ۵ ثانیه مخلوط کنید.

توجه: در صورتی که قصد دارید استخراج را ظرف ۴۸ ساعت انجام دهید، خون تازه را در یخچال نگهداری کنید. اگر استخراج پس از ۲ روز انجام خواهد شد، بهتر است نمونه خون را در فریزر منفی ۲۰ یا ترجیحا منفی ۸۰ نگه کنید.

۳. ۳۰۰ میکرولیتر **BD1** اضافه کنید و به مدت ۵ ثانیه مخلوط کنید.

۴. از محلول **BD2** به میزان ۶۰۰ میکرولیتر اضافه کنید و به مدت ۵ ثانیه مخلوط کنید.

۵. میکروتیوب را به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه کنید.

۶. پس از انکوباسیون، ۳۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۶ یا ۱۰۰ درجه اضافه کنید و به مدت ۵ ثانیه مخلوط کنید.

-------DNA BINDING TO THE COLUMN------

۷. میزان ۷۵۰ میکرولیتر از مخلوط حاصله را به ستون جداسازی (spin column) که در داخل تیوب جمع‌کننده قرار دارد منتقل کنید.

۸. با سرعت ۸.۰۰۰rpm به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، مایع جمع شده در تیوب جمع‌کننده را دور بریزید و ستون را مجددا در تیوب جمع‌کننده قرار دهید.

۹. باقی مانده مخلوط (حدود ۷۵۰ میکرولیتر) را مجددا به همین ستون اضافه کنید و به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۸.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، مایع جمع شده در تیوب جمع‌کننده را دور بریزید و ستون را مجددا در تیوب جمع‌کننده قرار دهید.

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

۱۰. از محلول **BD3** به میزان ۷۰۰ میکرولیتر به ستون اضافه کنید و آن را به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۰.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، مایع جمع شده در تیوب جمع‌کننده را دور بریزید.

۱۱. ستون را مجددا در تیوب جمع‌کننده قرار دهید و بدون اضافه نمودن هیچ گونه محلولی، آن را با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کنید.

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

۱۲. ستون را به داخل یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال دهید. به داخل ستون ۵۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر از محلول **BD4** اضافه کنید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.

۱۳. تیوب را به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید.

۱۴. ستون را دور بریزید. مایع جمع شده در تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی DNA ژنومیک است و می‌توانید آن را در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمائید.

توجه: برای حذف مقادیر بسیار ناچیز و احتمالی **RNA**، آنزیم **RNase A** با غلظت ۲ میلی گرم در میلی لیتر (از اجزای کیت نمی باشد) را در انتهای مرحله ۵ به میزان ۲ میکرولیتر اضافه کنید و به مدت ۵ ثانیه مخلوط کرده و میکروتیوب را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه کنید. سپس از مرحله ۶ پروتکل را دنبال کنید. ◢

حمل: دمای 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: BD1, BD2, BD3, BD4
Enzymes: Proteinase K
Spin Columns

Expiry date: 18 month after shipping