Fungi DNA Isolation Kit

Cat. No.: S-1034-5; 5 applications
Cat. No.: S-1034; 25 applications
Cat. No.: S-1034-1; 50 applications

DENA ZIST ASIA
MOLECULAR BIOLOGY PRODUCTS
www.denazist.ir

معرفی و کاربردها:

معرفی و کاربردها: کیت حاضر برای استخراج DNA ژنومیک از بافت‌های گیاهی، دانه و قارچ‌های فیلامنتوس 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 قرار گیرد.

VERSION: Sept 2023

قبل از اولین استفاده:

در کیت‌های۵ عددی به محلول FG3 به میزان ۳.۶ میلی‌لیتر، در کیت‌های ۲۵ عددی به محلول FG3 به میزان ۱۸ میلی‌لیتر، و در کیت‌های ۵۰ عددی به محلول FG3 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 قارچ:

مطمئن شوید که به محلول FG3 مقادیر مناسب اتانول اضافه شده است.

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

۱. ۵۰۰ میکرولیتر بافر **FG1** و ۵ میکرولیتر -۲ مرکاپتواتانول (2-mer-captoethanol در کیت موجود نیست) در یک میکروتیوب اضافه و مخلوط کنید.

۲. ۱۰۰ میلی‌گرم قارچ، بافت گیاهی یا دانه را وزن کرده و در یک هاون چینی در داخل ازت مایع به خوبی خرد کنید. با اضافه نمودن ۵۰۰ میکرولیتر ازمخلوط مرحله یک (FG1 به همراه -۲ مرکاپتواتانول) به هاون، بافت خرد شده را جمع‌آوری کرده و به یک لوله هموژنایزر انتقال دهید.

یا

اگر از کشت مایع قارچ، مسیر را شروع می‌کنید، ۱۸۰۰ میکرولیتر از کشت مایع (1×10^8 سلول قارچ) را در یک میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کنید. سپس همه مایع رویی را دور بریزید و پلت حاصله را در ۵۰۰ میکرولیتر از محلول مرحله یک حل کنید.

۳. چند بید شیشه‌ای را به میکروتیوب اضافه و با بالاترین سرعت به مدت ۱۰ دقیقه ورتکس کنید.

۴. به میکروتیوب، ۱۰ میکرولیتر **Proteinase K** اضافه و ۱۰ ثانیه ورتکس کنید. سپس به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه کنید.

۵. لوله را به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ،پس از سانتریفیوژ، ۵۰۰ میکرولیتر از محلول فوقانی را به یک میکروتیوب جدید منتقل کنید.

۶. به میکروتیوب، ۱۰ میکرولیتر **RNase A** اضافه کنید. پس از مخلوط کردن، میکروتیوب را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه کنید

۷. ۵۰۰ میکرولیتر بافر **FG2** اضافه و مخلوط کنید. سپس ۵۰۰ میکرولیتر اتانول به آن اضافه و به مدت ۵ ثانیه ورتکس کنید.

--DNA BINDING TO THE COLUMN--

۸. از محلول حاصله ۷۰۰ میکرولیتر را به داخل ستون قرارگرفته در لوله جمع‌کننده‌اش (هر دو در کیت موجود می‌باشد) منتقل کنید. سپس به مدت یک دقیقه در ۸.۰۰۰rpm در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ کنید. مایع جمع‌شده در لوله جمع‌کننده را دور بریزید و دوباره ستون را در داخل لوله جمع‌کننده‌اش قرار دهید.

۹. باقی‌مانده محلول را نیز به داخل همین ستون منتقل و مرحله ۸ را تکرار کنید.

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

۱۰. به داخل ستون ۷۰۰ میکرولیتر از محلول **FG3** 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 FG3 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.

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

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

۱۴. از محلول **FG4**، 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. ◢

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: FG1, FG2, FG3, FG4
Enzymes: RNase A, Proteinase K
Spin Columns
Glass beads

Store all components at room temperature except the enzymes which should be stored at -20 °C.