Plasmid DNA isolation (NC kit)

Cat. No.: S-1041; 25 applications
Cat. No.: S-1041-1; 50 applications

DENA ZIST ASIA
MOLECULAR BIOLOGY PRODUCTS
www.denazist.ir

معرفی و کاربردها:

این کیت برای استخراج ساده و کارآمد DNA پلاسمیدی، بر اساس لیز قلیایی سلول‌های باکتریایی که نسخه‌های پلاسمید خود را در طول کشت تکثیر کرده‌اند، طراحی شده است. DNA پلاسمیدی استخراج‌شده توسط این کیت را می‌توان برای برش با آنزیم‌های محدودکننده، واکنش PCR و پروژه‌های کلونینگ استفاده کرد. تیمار نمونه‌ها با RNase در ابتدای فرآیند استخراج، آلودگی‌های RNA را از محصول نهایی حذف می‌کند.

VERSION: Mar 2022

پروتکل استخراج پلاسمید:

قبل از شروع، مطمئن شوید که اتانول ٪۹۵ و ٪۷۰ را تهیه کرده‌اید. در صورت وجود رسوب در بافرNC2 آن را در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم کنید تا کاملا شفاف شود.

۱. ۳ میلی‌لیتر (برای پلاسمیدهایی با تعداد کپی بالا) از کشت مایع باکتری حاوی پلاسمید را که به مدت ۱۴ ساعت رشد داده شده است، یا ۱۰-۵ میلی‌لیتر (برای پلاسمیدهایی با تعداد کپی پایین) را در چند نوبت در یک میکروتیوب ۱/۵میلی‌لیتری با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm و به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کرده و رسوب دهید. رسوب حاصله حاوی باکتری خواهد بود. مایع رویی را دور بریزید.

۲. رسوب را در ۱۰۰ میکرولیتر محلول **NC1** با پی‌پت کردن و ورتکس نمودن به خوبی همگن سازید. ۱۰ میکرولیتر **RNase A** به میکروتیوب اضافه کنید. میکروتیوب را به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.

۳. به محلول قبلی ۲۰۰ میکرولیتر محلول **NC2** اضافه کنید و با چند بار وارونه کردن لوله محتوای آن را همگن سازید. مخلوط را به مدت ۵ دقیقه روی یخ انکوبه کنید.

۴. ۱۵۰ میکرولیتر **NC3** اضافه کنید و پس از چندین بار وارونه کردن میکروتیوب آن را به مدت ۵ دقیقه روی یخ قرار دهید.

۵. میکروتیوب را به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. پس از اتمام سانتریفیوژ یک رسوب شیری رنگ در ته میکروتیوب تشکیل خواهد شد.

۶. مایع رویی حاصل از سانتریفیوژ را به یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری جدید انتقال دهید و رسوب را دور بریزید.

۷. ۸۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه کنید و با چند بار وارونه کردن میکروتیوب محتوای آن را همگن سازید و به مدت ۳ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه کنید.

۸. میکروتیوب را به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. رسوب سفید رنگی در ته میکروتیوب تشکیل می‌شود. محلول مایع رویی را دور بریزید.

۹. ۱۰۰۰ میلی‌لیتر از اتانول ۷۰ درصد به رسوب اضافه کنید. میکروتیوب را به آرامی ورتکس کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۰.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. محلول مایع رویی را دور بریزید.

۱۰. درب میکروتیوب را به مدت ۱۰ دقیقه باز کنید و اجازه دهید تا رسوب در دمای اتاق خشک شود. رسوب را می‌توان در خلاء نیز خشک کرد.

۱۱. ۵۰-۳۰ میکرولیتر از بافر **NC4** اضافه کنید و رسوب را حل کنید. نمونه را در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری کنید. ◢

Kit components:

Buffers: NC1, NC2, NC3, NC4
Enzyme: RNase A

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

حمل: دمای محیط
نگهداری: دمای محیط (به جز RNase A که باید در منفی ۲۰ نگهداری شود)
استفاده: فقط برای مصارف تحقیقاتی
این محصول موازین کنترل کیفی را گذرانده است.