Plant DNA Isolation Kit

Cat. No.: S-1030-5; 5 applications
Cat. No.: S-1030; 25 applications
Cat. No.: S-1030-1; 50 applications

DENA ZIST ASIA
MOLECULAR BIOLOGY PRODUCTS
www.denazist.ir

معرفی و کاربردها:

کیت حاضر برای استخراج DNA ژنومیک از انواع بافت و سلول گیاهی 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 انواع هیبریدیزاسیون از جمله Sothern blotting مورد استفاده قرار گیرد.

VERSION: Oct 2023

قبل از اولین استفاده:

در کیت‌های ۵ عددی، به محلول DG2 به میزان ۰.۸۸ میلی‌لیتر ایزوپروپانول، و به محلول DG3 به میزان ۲.۴ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ تا ۱۰۰ درصد اضافه کنید.
در کیت‌های ۲۵ عددی، به محلول DG2 به میزان ۴ میلی‌لیتر ایزوپروپانول، و به محلول DG3 به میزان ۱۲ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ تا ۱۰۰ درصد اضافه کنید.
در کیت‌های ۵۰ عددی، به محلول DG2 به میزان ۸ میلی‌لیتر ایزوپروپانول، و به محلول DG3 به میزان ۲۴ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ تا ۱۰۰ درصد اضافه کنید.
مطمئن شوید که ظروف دارای ایزوپروپانول و اتانول به طرز مناسب و مشخصی لیبل‌گذاری شوند.

پروتکل استخراج DNA ژنومیک از گیاه:

مطمئن شوید که به محلول‌های DG2 و DG3 قبل از اولین استفاده به ترتیب مقادیر مناسب ایزوپروپانول و اتانول اضافه شده است.

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

۱. ۲۰ میلی گرم بافت را در یک هاون چینی استریل با اضافه کردن تدریجی ازت مایع به خوبی خرد کنید. سپس ۱۰ میلی گرم از این بافت را در داخل میکروتیوب ۱.۵ میلی لیتری قرار دهید.

۲. ۵۰۰ میکرولیتر بافر **DG1** را به داخل میکروتیوب اضافه کرده و بعد از اضافه کردن ۵ میکرولیتر ۲ مرکاپتواتانول، به خوبی مخلوط کنید. سپس با انجام ورتکس بافت خرد شده را در داخل محلول همگن کنید.

۳. لیزات سلولی/بافتی را ۵ بار با عبور از داخل سرسوزن شماره ۲۰ توسط یک سرنگ ۱۰ میلی لیتری کاملا همگن کنید. سپس لیزات همگن شده را به مدت ۱۵ دقیقه در فریزر منفی ۸۰ (یا فریزر منفی ۲۰) قرار دهید. میکروتیوب را پس از خارج کردن از فریزر منفی ۸۰، در دمای اتاق قرار دهید تا از حالت یخ زدگی خارج شود.

مراحل اضافی جهت استخراج از گیاهان حاوی محتوای بالای پلی ساکارید

۳.۱. در ادامه مرحله ۳، ۵۰۰ میکرولیتر دیگر از بافر **DG1** را به داخل میکروتیوب اضافه کنید. از محلول ۲ مولار استات پتاسیم (pH, 5.5) به میزان ۲۲۵ میکرولیتر اضافه کنید. این محلول در کیت موجود نمی باشد.

۳.۲. محتویات را مخلوط کنید و به مدت ۱۵ دقیقه در یخ انکوبه کنید. میکروتیوب را به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید.

۳.۳. مایع فوقانی را به یک تیوب ۱.۵ میلی لیتری جدید منتقل کنید. به اندازه نصف حجم از اتانول خالص (۹۶ درصد) اضافه کرده و چند بار به آرامی پیپت کنید.

۳.۴. پروتکل را از مرحله ۵ دنبال کنید.

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

۴. میکروتیوب را به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، محلول فوقانی را به یک میکروتیوب دیگر انتقال داده و به اندازه نصف حجم از این محلول از اتانول خالص (۹۶ درصد) اضافه کرده و چند بار به آرامی پیپت کنید.

۵. میکس لیزات و اتانول را در مقادیر ۷۰۰ میکرولیتری به داخل ستون استخراج (موجود در داخل کیت) ریخته و به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. مایع جمع شده در بخش جمع کننده ی ستون استخراج را دور بریزید. مجددا به داخل همین ستون مابقی مخلوط لیزات و اتانول را بریزید و سانتریفیوژ راتکرار کنید. این مرحله تا آنجا تکرار شود که تمامی مخلوط لیزات و اتانول از ستون رد شده باشد.

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

۶. به داخل ستون ۵۰۰ میکرولیتر از محلول **DG2** 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.

۷. ۷۰۰ میکرولیتر از محلول **DG3** به داخل ستون 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.

۸. ستون و لوله جمع‌کننده‌اش را یک بار دیگر بدون اضافه نمودن هیچ محلولی به مدت ۳ دقیقه در ۱۳.۰۰۰rpm در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ کنید.

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

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

۱۰. از محلول **DG4**، به میزان ۵۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر به مرکز ستون اضافه کنید. لوله را به مدت ۱ دقیقه در ۱۳.۰۰۰rpm در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ کنید.

۱۱. 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: ۲ تا ۸ درجه (به جز آنزیم که باید در منفی ۲۰ نگهداری شود)
استفاده: فقط برای مصارف تحقیقاتی
این محصول موازین کنترل کیفی را گذارنده است.

Kit components:

Buffers: DG1, DG2, DG3, DG4
Spin Columns

Store all components at room temperature.