PCR Clean-up Kit

Cat. No.: S-1060; 25 applications
Cat. No.: S-1060-1; 50 applications

DENA ZIST ASIA
MOLECULAR BIOLOGY PRODUCTS
www.denazist.ir

معرفی و کاربردها:

این کیت برای بازیابی اسید نوکلئیک از انواع واکنش‌های آنزیمی از جمله restriction enzyme digestion وPCR کاربرد دارد. در حین بازیابی توسط این کیت، اسید نوکلئیک با کارآیی بسیار بالا از انواع پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، نمک و قطعات کوچک اسید نوکلئیک (کمتر از ۵۰ جفت‌باز) جدا می‌شود. میزان و کیفیت بالای DNA استخراج‌شده توسط این کیت برای انواع کاربردهای بیولوژی مولکولی مورد آزمون کیفی و کمی قرار گرفته است. این موارد عبارتند از:

PCR and qPCR, transfection, plasmid subcloning, *in vitro* transcription, Sanger sequencing

VERSION: Nov 2021

قبل از اولین استفاده:

در کیت‌های ۲۵ عددی به محلول PC2 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.

پروتکل بازیابی اسید نوکلئیک از واکنش:

مطمئن شوید که به محلول PC2 قبل از اولین استفاده مقادیر مناسب اتانول اضافه شده است.

۱. به یک میکروتیوب ۱/۵میلی‌لیتری، مقدار کمی از محلول PC3 اضافه کنید و آن را برای استفاده در مرحله آخر این پروتکل در بن ماری ۶۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه کنید.
۲. حجم واکنش آنزیمی را اندازه‌گیری کنید و آن را با آب استریل به حجم ۱۰۰ میکرولیتر برسانید. اگر حجم ۱۰۰ یا بیشتر است، نیازی به تنظیم حجم نمی‌باشد. این حجم "حجم اولیه" نامیده می‌شود.
۳. هم حجم با حجم اولیه محلول **PC1** اضافه و مخلوط کنید. سپس ۱۰ میکرولیتر استات سدیم (**Na acetate**) اضافه و مخلوط کنید.
۴. هم حجم با حجم اولیه از اتانول ۹۶ تا ۱۰۰ درجه اضافه و مخلوط کنید.

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

۵. تمامی محلول را به ستون جداسازی (spin column) که در داخل تیوب جمع‌کننده‌اش قرارداده‌اید، منتقل کنید.
۶. با سرعت ۸.۰۰۰rpm به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، مایع جمع‌شده در تیوب جمع‌کننده را دور بریزید.

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

۷. ستون را مجددا در تیوب جمع‌کننده قرار دهید. از محلول **PC2** به میزان ۷۰۰ میکرولیتر به ستون اضافه کنید و به مدت ۲ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه کنید.
۸. به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۰.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، مایع جمع‌شده در تیوب جمع کننده را دور بریزید.
۹. ستون را مجددا در تیوب جمع کننده قرار دهید و بدون اضافه نمودن هیچ محلولی، آن را در بالاترین سرعت (۱۳.۰۰۰–۱۴.۰۰۰rpm) به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کنید.

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

۱۰. ستون را به داخل یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال دهید. به داخل ستون ۴۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر از محلول **PC3** گرم‌شده اضافه کنید و آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه کنید. سپس میکروتیوب را به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۰.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید.

نکته مهم: میزان محلول PC3 در این مرحله غلظت نهایی را تعیین خواهد کرد. برای رسیدن به غلظت‌های بالاترِ بازیابی، از حجم کمتر PC3 در این مرحله استفاده کنید.

۱۱. مایع جمع‌شده در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری را به داخل ستون برگردانید و پس از گذشت ۴ دقیقه در دمای اتاق، تیوب را به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۱۳.۰۰۰rpm سانتریفیوژ کنید.
۱۲. 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. ◢

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

Kit components:
Buffers: PC1, PC2,PC3
Na acetate
Spin Columns