

Blood And Saliva DNA Isolation Kit

محتویات کیت استخراج DNA خون و بزاق:

	4 preps sample	50 preps sample	100 preps sample
PB1 Buffer	4 ml	50 ml	100 ml
PB2 Buffer	1.5ml	15 ml	30ml
PB Buffer	2 ml	25 ml	50 ml
PW1 Buffer	300 μ l x 2	6 ml	6 ml x 2
PW2 Buffer	350 μ l	4 ml	8 ml
PE Buffer	1.5ml	10 ml	20 ml
Proteinase K	100 μ l	1 ml	2 ml
Spin Column	4 pcs	50 pcs	50 pcs x 2
Collection Tube	4 pcs	50 pcs	50 pcs x 2

* آماده سازی بافر PW1 و PW2 و محلول پروتئیناز K قبل از اولین استفاده:

	4 preps sample	50 preps sample	100 preps sample
Ethanol volume for PW1 Buffer	1.7 ml x 2	34 ml	34 ml x 2
Ethanol volume for PW2 Buffer	2 ml	26 ml	52 ml
proteinase K Solution volume	100 μ l	1 ml	2 ml

قبل از اولین استفاده:

در کیت های ۴ عددی

- مقدار ۱/۷ میلی لیتر اتانول مطلق به محلول PW1 و ۲ میلی لیتر به محلول PW2 اضافه کنید و سپس برچسب روی ظرف ها را علامت گذاری کنید.
- قبل از اولین استفاده ویال حاوی پروتئیناز K را فیوژ کرده و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول پروتئیناز K یا ۱۰۰ میکرولیتر از ddH₂O را به ویال حاوی پروتئیناز K اضافه کنید و سپس به آرامی ویال را ورتکس کنید تا محلول به خوبی حل گردد.

در کیت های ۵۰ عددی

- مقدار ۳۴ میلی لیتر اتانول مطلق به محلول PW1 و ۲۶ میلی لیتر به محلول PW2 اضافه کنید و سپس برچسب روی ظرف ها را علامت گذاری کنید.
- قبل از اولین استفاده ۱ میلی لیتر از محلول پروتئیناز K یا ۱ میلی لیتر از ddH₂O را به ویال حاوی پروتئیناز K اضافه کنید و سپس به آرامی ویال را ورتکس کنید تا محلول به خوبی حل گردد.

نکات مهم:

- I. ویال پروتئیناز K را در دمای 20°C - نگهداری کنید. قبل از اولین استفاده حجم مورد نیاز محلول پروتئیناز K را به ویال پروتئیناز K اضافه کنید سپس ورتکس کرده و مطمئن شوید که پروتئیناز K کاملاً حل شده است.
- II. حجم مورد نیاز اتانول مطلق را در اولین استفاده به بافر PW1 و بافر PW2 اضافه کنید.
- III. قبل از شروع استخراج، انکوباسیون را تا دمای 50°C گرم کنید.
- IV. قبل از شروع استخراج، اتانول مطلق را در دمای اتاق ذخیره کنید.
- V. قبل از شروع استخراج، در صورت مشاهده ی رسوب در محلول های PB1 و PB2 و PB محلول ها را به مدت ۱ الی ۲ دقیقه در دمای 60°C قرار دهید تا رسوبات حل شوند.

روش استخراج:

۱. a. استخراج از نمونه خون: ۲۰۰ میکرولیتر از بافی کوت و یا ۳۰۰ میکرولیتر خون کامل را به میکروتیوب ۲ میلی لیتری منتقل کنید.
b. استخراج از نمونه بزاق: ۵۰۰ میکرولیتر نمونه بزاق را به میکروتیوب ۲ میلی لیتری منتقل کنید.
۲. مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از محلول PB1 را به میکروتیوب اضافه کرده و میکروتیوب را بمدت ۲۰ ثانیه ورتکس کنید، سپس در سانتریفیوژ با سرعت 14000rpm به مدت ۳ دقیقه قرار دهید.
۳. محلول رویی را دور ریخته و ۵۰۰ میکرولیتر از محلول PB1 به میکروتیوب اضافه کنید. میکروتیوب را تا حل شدن رسوبات ورتکس کنید، سپس در سانتریفیوژ با سرعت 14000rpm به مدت ۲ دقیقه قرار دهید.
۴. محلول رویی را دور ریخته و ۳۰۰ میکرولیتر از محلول PB2 به میکروتیوب اضافه کنید.
۵. ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K به محلول اضافه کرده و تا حل شدن رسوب به خوبی ورتکس کنید، سپس مخلوط حاصله را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 50°C انکوبه کنید. (در طی انکوباسیون، میکروتیوب هر چند دقیقه یکبار به آرامی تکان داده شود تا لیز سلولی به خوبی صورت گیرد).
۶. پس از مدت زمان انکوباسیون، روی محلول حاصله ۵۰۰ میکرولیتر از محلول PB بریزید و به آرامی میکروتیوب را سر و ته کنید. توجه: (محلول PB حاوی الکل است، بلافاصله پس از استفاده درب محلول را ببندید).
۷. محلول حاصله را به ستون جداسازی که در داخل تیوب جمع کننده قرار دارد منتقل کنید، سپس در سانتریفیوژ با سرعت 10000rpm به مدت ۳۰ ثانیه قرار دهید.
۸. پس از سانتریفیوژ، مایع جمع شده در تیوب جمع کننده را دور ریخته، ستون را مجدداً در تیوب جمع کننده قرار دهید و از محلول PW1 به میزان ۷۰۰ میکرولیتر به ستون اضافه کنید، سپس به مدت ۱ دقیقه با سرعت 10000rpm سانتریفیوژ کنید.
۹. مایع جمع شده در تیوب جمع کننده را دور ریخته و ۵۰۰ میکرولیتر از محلول PW2 به ستون اضافه کنید و آن را به مدت ۱ دقیقه با سرعت 10000rpm سانتریفیوژ کنید.
۱۰. مایع جمع شده در تیوب جمع کننده را دور ریخته و ستون را مجدداً در تیوب جمع کننده قرار دهید و بدون اضافه نمودن هیچ گونه محلولی آن را با سرعت 14000rpm به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
۱۱. ستون را به یک میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری انتقال دهید و به مقدار ۳۰ الی ۱۰۰ میکرولیتر از محلول PE را به آرامی به مرکز ستون اضافه کنید و به مدت ۱۰-۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.
۱۲. تیوب را به مدت ۲ دقیقه با سرعت 13000rpm سانتریفیوژ کنید، سپس ستون را دور انداخته و مایع جمع شده در میکروتیوب را که حاوی DNA است در دمای 20°C - نگهداری کنید.