روش استفاده از کیت استخراج DNA از باکتری

1. مقدار 1 تا 5 میلی لیتر از کشت شبانه محیط Lb broth که حاوی log9 از باکتری مورد نظر می باشد را به میکروتیوب 1.5 میلی لیتر استریل وارد نمایید. سپس میکروتیوب را درون سانتریفیوژ قرار داده و با سرعت 12000 دور در دقیقه به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ نموده و سپس محلول حاصل را دور بریزید.
2. 200 میکرولیتر از محلول DR را به میکروتیوب اضافه نموده و خوب تکان دهید. درصورتی که نیاز به تهیه ژنوم عاری از RNA باشد، می توانید به میزان 4 میکرولیتر از نمونه را به نمونه افزوده و ورتکس نمایید و پس از آن نمونه را به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق بگذارید.
3. 20 میکرولیتر از پروتئیناز k و 220 میکرولیتر از محلول DLBa را به میکروتیوب اضافه نموده و خوب تکان دهید.سپس نمونه را در دمای 65 درجه سانتیگراد به مدت 10 تا 15 دقیقه گرمخانه گذاری(انکوباسیون) نمایید.
4. 220 میکرولیتر اتانول مطلق را به نمونه اضافه نموده و سپس نمونه را با تکان دادن مخلوط می کنیم.طی این مرحله رسوب ایجاد شده قابل مشاهده می گردد.سپس مخلوط حاصل از این مرحله را به میکروتیوب ستون دارمنتقل کنید (هر ستون حاوی یک میکروتیوب نگهدارنده با حجم 2 میلی لیتر می باشد.)ستون حاوی مخلوط ذکر شده را درون سانتریفیوژ قرار داده و با سرعت 12000 دور در دقیقه به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ نمایید.سپس محلول موجود را دور بریزید.
5. 500 میکرولیتر از محلول DW1 را به میکرو تیوب اضاف نموده و با سرعت 12000 دور در دقیقه به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ نموده و سپس محلول حاصل را دور بریزید.
6. 500 میکرولیتر از محلول DW2 را به میکرو تیوب اضاف نموده و با سرعت 12000 دور در دقیقه به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ نموده و سپس محلول حاصل را دور بریزید.این مرحله باید دو بار تکرار شود.
7. ستونها باید درون سانتریفیوژ قرار داده شده و با سرعت 12000 دور در دقیقه به مدت 4 دقیقه سانتریفیوژ گردیده و محلول حاصل دور ریخته شود.(این مرحله برای حذف اتانول از ستون استخراج بسیار مهم و ضروری است زیرا وجود محلولهای مراحل قبل سبب خطا در مراحل بعدی فرایند PCR خواهد شد)
8. ستون را به میکروتیوب 1.5 میلی لیتر (RNase,DNase Free) جدید که در ایجا ریکاوری تیوب نامیده می شود ،منتقل نمایید و سپس 75 میکرولیتر از محلول DE را به وسط ستون منتقل نموده و به مدت در دمای اتاق قرار دهید.سپس میکروتیوب را با سرعت 12000 دور در دقیقه به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ نموده و در نهایت ستون را دور بیاندازید.(محلول DE باید حتما قبل از استفاده تا دمای 60 درجه سانتیگراد پیش گرم شده باشد.این گرما به تولید بیشتر محصول DNA خواهد انجامید.)محلول حاصل حاوی DNA مورد نظر میباشد که می توانید در دمای 4 درجه سانتیگراد برای کوتاه مدت و در دمای 20- درجه سانتیگراد برای طولانی مدت نگهداری نمایید.

دفتر فروش: تهران، خیابان کارگر جنوبی، میدان پاستور، خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران،مرکز رشد وفناوری
تلفن: 021 6411 2508 , 021 5543 3092, 021 6411 2505 **فکس:** 021 6411 2508
واحد تولید وتحقیقات:تهران، خیابان کارگر جنوبی، میدان پاستور، خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران،مرکز رشد وفناوری
Email: v.gene.pars@gmail.com, info@vgenepars.ir **Web:** www.vgenepars.ir