

کیت استخراج محصول PCR از ژل

شماره کاتالوگ (BP-163)

مشخصات فنی

این کیت برای برای تخلیص محصول PCR از ژل می باشد که برای انجام ۲۵ واکنش آماده شده است. در این سیستم ژل حاوی محصول PCR با یک اسکالپل تمیز بریده شده در داخل یک میکروتیوب تمیز قرار داده می شود و در حضور نمک های کائوتوروپیک نظیر یدید پتاسیم در شرایط حفظ PH اسیدی ذوب می شود. و با اضافه شدن اتانول ۹۶% و ترکیب نظیر ایزوتیوسیانات و گوانیدین HCL قطعات DNA به ستون می چسبد و سپس طی چند مرحله شستشو سایر مواد و ناخالصی ها شسته شده و فقط DNA به ستون محتوی سیلیکا ژل اتصال می یابد. در نهایت با اضافه شدن بافر الوشن و شرایط PH بازی DNA مورد نظر از ستون شسته شده و برای استفاده های بعدی در فریزر 20- نگهداری می شود.

محتویات کیت:

| مقدار | Components |
|--------|--------------------------|
| 6mL | BP Gel Extraction Buffer |
| 6mL | BP Banding Buffer |
| 21mL | BP Washing Buffer |
| 1.5mL | BP Elution Buffer |
| ۲۵ عدد | Micro Column tube |

پروتکل انجام آزمایش:

مواد و تجهیزات مورد نیاز:

- سر سمپلر های فیلتر
- سمپلر های متغیر
- سانتریفیوژ یخچال دار
- ترموبلاگ

روش کار:

ژل حاوی محصول PCR با یک اسکالپل تمیز طوری بریده شو که وزن آن 200 میلی گرم باشد. سپس 200 μ L از بافر BP Gel Extraction Buffer به آن اضافه کنید و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 60°C قرار دهید.

توجه: بعد از حل شده ژل باید رنگ محلول باید زرد باشد چنانچه رنگ محلول قرمز یا نارنجی باشد 10 μ L استات سدیم ۳ مولار اضافه کنید.

سپس 200 μ L از بافر BP Banding Buffer به آن اضافه کنید و با کمک پپیتاژ کاملاً مخلوط کنید.

سپس محلول فوق به Micro Column tube منتقل کنید و به مدت یک دقیقه در دور 13000RPM سانتریفیوژ کنید.

مایع زیر ستون دور ریخته بریزید و ستون را سر جایش قرار دهید و به آن 700 μ L از BP Washing Buffer اضافه کنید و به مدت یک دقیقه در دور 13000RPM سانتریفیوژ کنید.

مرحله ۴ تکرار کنید.

در این مرحله جهت حذف باقیمانده اتانل Micro Column tube خالی را برای مدت یک دقیقه در دور دور 13000RPM سانتریفیوژ کنید.

سپس Micro Column tube را به آرامی به یک میکروتیوب استریل ۱.۵ (برای شما فراهم نشده) قرار دهید و به مرکز ستون 30 μ L از ویال BP Elution Buffer اضافه کنید و برای مدت یک دقیقه در دمای انکوبه کنید.

سپس برای مدت یک دقیقه در دور 13000RPM سانتریفیوژ کنید. برای استفاده بعدی خود می توانید محصول PCR تخلیص شده را در دمای 20°C- نگهداری کنید.

BP PCR extraction kit

مواد و روش ها

- ۱- سانتریفیوژ
- ۲- ترموبلاگ
- ۳- یدید پتاسیم
- ۴- NaOH
- ۵- ایزوتیوسیانات
- ۶- گوانیدین HCL
- ۷- تریس HCL
- ۸- ایزوپروپانول
- ۹- سدیم آزاید
- ۱۰- PH متر
- ۱۱- Spin column

پروسه

طرز تهیه BP Gel Extraction Buffer

مقدار مناسبی از یدید پتاسیم با PH مناسب تهیه میشود و به عنوان بافر استخراج استفاده می شود. این محلول بعد از تهیه در دمای اتاق نگهداری می شود.

طرز تهیه BP Banding Buffer

مقدار مناسب از ایزوتیوسیانات و گوانیدین HCL در محلول تریس HCL حل کرده و به PH مناسب می رسانیم و به عنوان بافر متصل کننده محصولات PCR به ستون بکار می رود.

طرز تهیه BP Washing Buffer

مقدار مناسبی از تریس HCL با PH مناسب با درصد مناسبی از ایزوپروپانول مخلوط شده و به عنوان بافر شستشو مورد استفاده قرار می گیرد.

طرز تهیه BP Elution Buffer

این بافر حاوی ترکیبات مقدار مناسبی از محلول EDTA با مولاریته مشخص بوده که با مقدار مناسبی از سدیم آزاید ترکیب شده و به کمک سود مقدار پی اچ آن بر روی ۸.۵ تنظیم می شود.

ستون جاذب Spin column

توصیف:

در این سیستم ابتدا با کمک دستگاه ترانس ایلومینیتور زیر نور UV با طول موج بالا باند DNA به مشاهده می شود و سپس توسط یک اسکالپل تمیز ناحیه ای را که باند مذکور در آن بود با نهایت دقت برش داده شد می شود طوری که وزن آن بیشتر از 200mg نباشد.

سپس ژل بریده شده در داخل یک میکروتیوب تمیز قرار داده می شود و در حضور نمک های کائوتوروپیک نظیر یدید پتاسیم در شرایط حفظ PH اسیدی ذوب می شود. و با اضافه شدن اتانول ۹۶% و ترکیب نظیر ایزوتیوسیانات و گوانیدین HCL قطعات DNA به ستون می چسبند و سپس طی چند مرحله شستشو سایر مواد ناخالصی ها شسته شده و فقط DNA به ستون محتوی سیلیکا ژل اتصال می یابد.

در نهایت با اضافه شدن بافر الوشن و شرایط PH بازی DNA مورد نظر از ستون شسته شده و برای استفاده های بعدی در فریزر 20- نگهداری می شود.

