زیستاژن آفرین

مشخصات کیت استخراج DNA از بزاق زیستا (GA-EX-01)

توضیحات:

این کیت، بهترین روش جایگزین خونگیری جهت انجام تست های ژنتیک و مولکولی بوده و در بیمارانی که به علت های مختلف مانند دریافت خون، شیمی درمانی و یا برخی سرطان های خون و بدخیمی های خونی، اوتیسم و همچنین در افراد بالای 60 سال و کودکان زیر 3 سال که خونگیری از آنها دشوار است، استفاده از نمونه بزاق بهترین انتخاب خواهد بود.

لازم بذکر است که DNA استخراج شده می‌تواند در بسیاری از واکنش ها و آنالیزهای مولکولی پائین‌دست[1] از جمله PCR[2] ، تعیین توالی[3] ، تعیین ژنوتایپ[4] و انواع هیبریدیزاسیون از جمله Southern blotting مورد استفاده قرار گیرد.

قبل از استفاده از این کیت لطفا به نکات ذیل توجه کنید:

۱- کلیه محلول‌های موجود در این کیت باید در دمای اتاق(15-25 °C) و حداکثر به مدت یک سال بعد از باز شدن نگهداری شوند.

۲- میکروتیوب محتوی آنزیم پروتئیناز Kموجود در کیت را در دمای 20- °C نگهداری کنید.

مواد و وسایل لازم:

✓ بافر فسفات یا PBS (Phosphate-buffered Saline) ، ایزوپروپانول مطلق ، اتانول 70درصد

✓ میکروتیوب 2میلی‌لیتری ، فالکون 15میلی‌لیتری ، سر سمپلر

نحوه نمونه گیری:

✓ جهت نمونه گیری از فرد موردنظر بخواهید که قبل از انجام نمونه گیری، مسواک زده و به مدت یک ساعت از خوردن، آشامیدن، سیگارکشیدن و جویدن آدامس خودداری کند. نمونه بزاق تازه را در فالکون استریل 15میلی‌لیتری جمع آوری کنید.

✓ دقت کنید که برای انجام استخراج با استفاده از این کیت، حداقل به 1میلی‌لیتر از بزاق فرد بدون کف نیاز دارید.

بعد از انجام نمونه گیری:

مقدار2 میلی‌لیتر از بافر شماره یک را به 1میلی‌لیتر از بزاق تازه اضافه کرده و کاملاً باهم مخلوط کنید.

1- Down Stream Reactions
2- Polymerase chain reaction
3- Next-Generation Sequencing
4- Genotyping

*نکته مهم ۱ : می‌توانید نمونه را در دمای 4 °C تا حداکثر یک ماه نگهداری کنید. در غیر اینصورت می‌توانید بعد از افزودن بافر شماره یک به نمونه بزاق، ادامه مراحل استخراج را انجام دهید.

*نکته مهم ۲ : پس از رسیدن نمونه به آزمایشگاه توصیه می‌شود که نمونه‌های جمع آوری شده تا زمان استخراج، در دمای 20 °C- نگهداری شوند.

نحوه انجام استخراج DNA:

۱- جهت استخراج نمونه، پس از ذوب شدن آن 1.5 میلی لیتر از مخلوط بزاق و بافر شماره یک را به میکروتیوب 2 میلی لیتری منتقل کنید. سپس نمونه را ترجیحا روی یخ قرار داده و به آن 0.5میلی‌لیتر PBS سرد اضافه کرده و خوب مخلوط کنید.

۲- میکروتیوب حاوی نمونه را با شرایط (8000g، 4°C ، 10min) سانتریفوژ کنید.

۳-محلول رویی را دور ریخته و به رسوب باقیمانده 1 میلی لیتر PBS سرد اضافه کنید و با شرایط(8000g، 4°C ،5min) سانتریفوژ کنید.

۴- محلول رویی را دور ریخته و به رسوب باقیمانده 500 میکرولیتر از بافر شماره دو را اضافه کرده و با پیپتاژ کاملاً مخلوط کنید. (توصیه می شود که تمامی این مراحل روی یخ انجام شوند).

۵- به مخلوط حاصل 50 میکرو لیتر از بافر شماره سه را اضافه کرده و به مدت 30 ثانیه ورتکس کنید. (پس از افزودن بافر شماره سه نمونه را روی یخ قرار ندهید).

۶- میزان 5 میکرولیتر از آنزیم پروتئینازK را به هر میکروتیوب اضافه و کاملاً مخلوط کنید.

۷- مخلوط بدست آمده را در بن ماری 55°C به مدت یک تا دو ساعت انکوبه کنید.

۸- پس از انکوباسیون به میکروتیوب محتوی نمونه، 400میکرولیتر از بافر شماره چهار را اضافه کرده و به مدت 30 ثانیه ورتکس کنید تا مخلوط شیری رنگ شود.

۹- میکروتیوب را با شرایط (10000g، 4°C، 10min) سانتریفوژ کنید.

۱۰- محلول رویی را به میکروتیوب 2میلی‌لیتری جدید منتقل کرده و بر روی یخ قرار دهید. سپس به هر میکروتیوب، 1میلی‌لیتر ایزوپروپانول سرد (که قبلاً در دمای 20°C- سرد شده است) اضافه کنید.

۱۱- هر میکروتیوب را به آرامی ده مرتبه سر و ته کنید تا کلاف رشته ای سفید رنگ DNA نمایان شود. (در صورتی که کلاف رشته ای سفید رنگ DNA را مشاهده نکردید، نمونه را در فریزر 20°C- به مدت یک ساعت قرار داده و سپس مرحله بعدی را انجام دهید).

۱۲- نمونه را با شرایط (10000g، 4°C، 15min) سانتریفوژ کنید.

۱۳- محلول رویی را دور ریخته و رسوب DNA حاصل را با 500 میکرو لیتر اتانول 70 درصدشستشو دهید.

۱۴- اتانول 70 درصد را کامل خارج کنید و رسوب DNA را به مدت پنج الی ده دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید تا خشک شود، سپس DNA را در مقدار دلخواه از آب یا بافر TE حل کنید.