کیت استخراج محصول PCR از ژل

شماره کاتالوگ (BP-173)

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 محصولPCR 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 موحله شتشو 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:

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

پروتکل انجام آزمایش:

مواد و تجهیزات مورد نیاز:

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

روش کار:

ژل حاوی محصولPCR با یک اسکالپل تمیز طوری بریده شو که وزن آن 200 میلی گرم باشد. سپس 200µL 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 10µL استات سدیم ۳ مولار اضافه کنید.

سپس 200µL از بافر BP Banding Buffer به آن اضافه کنید و با کمک پیپتاژ کاملا 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 700µL 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 30µL از ویال BP Elution Buffer اضافهکنید 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.

مواد و روش ها

۱- سانتریفیوژ
۲- ترموبالاگ
۳- یدید پتاسیم
۴- NaoH
۵- ایزوتیوسیانات
۶- گوانیدین HCL
۷- تریس HCL
۸- ایزوپوپانول
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 مشود 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 با فر متصل کننده محصولات PCR به ستون بکار می رود.

طرز BP Washing Buffer

مقدار مناسبی از تریس HCL با PH مناسب با درصد مناسبی از ایزوپوپانول 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.

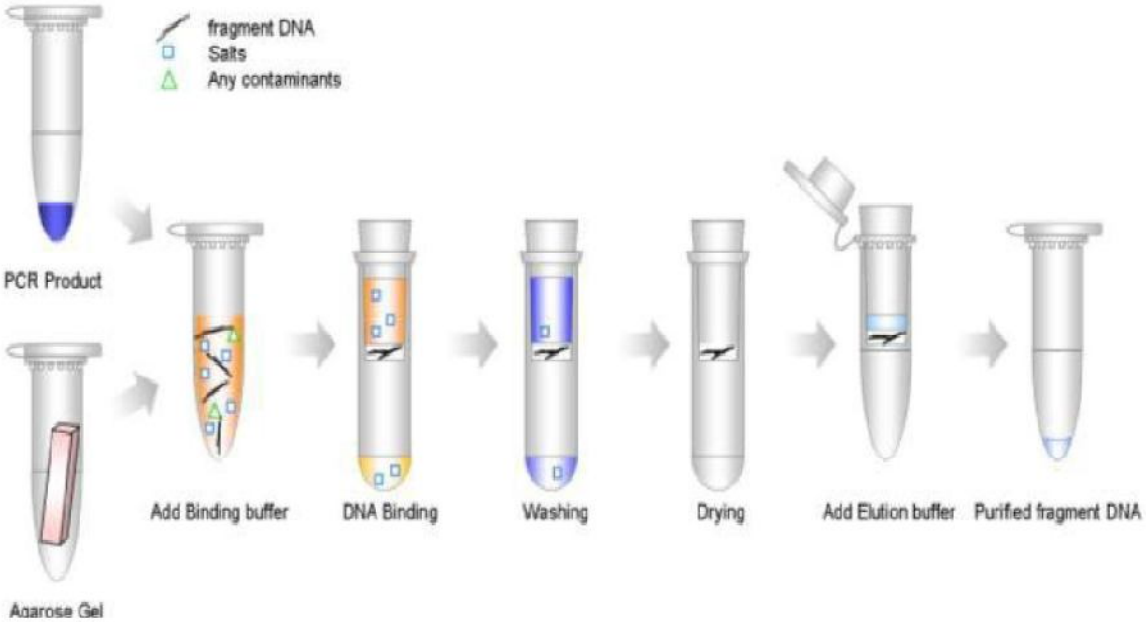
ستون جاذب Spin column

توصیف:

در این سیستم ابتدا با کمک دستگاه ترانس ایلومینیتور زیر نور UV با طول موج بالا باندDNA به مشاهده می شود و سپس توسط یک اسکالپل تمیز ناحیه ای را که باند مزکور در آن بود با نهایت دقت برش داده شدمی 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 چسبد و سپس طی چند موحله شتشو 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.


fragment DNA
Salts
Any contaminants
PCR Product
Agarose Gel
Add Binding buffer
DNA Binding
Washing
Drying
Add Elution buffer
Purified fragment DNA