

Animal Tissue DNA Isolation Kit

Cat. No.: S-1033; 25 applications
Cat. No.: S-1033-1; 50 applications



معرفی و کاربردها:

کیت حاضر برای استخراج DNA ژنومیک از بافت‌های حیوانی و انواع لاین‌های سلولی طراحی شده است. با استفاده از این کیت می‌توان DNA ژنومیک را در کوتاه‌ترین زمان و با بالاترین کیفیت استخراج کرد. DNA استخراج‌شده می‌تواند در بسیاری از واکنش‌های پائین دست از جمله PCR، تعیین توالی، تعیین ژنوتایپ، و تکنیک‌های مختلف هیبریداسیون مانند ساترن بلات مورد استفاده قرار گیرد.

VERSION: Mar 2022

قبل از اولین استفاده:

در کیت‌های ۲۵ عددی به محلول AT3 به میزان ۱۸ میلی‌لیتر اتانول اضافه کنید. در کیت‌های ۵۰ عددی به محلول AT3 به میزان ۳۶ میلی‌لیتر اتانول اضافه کنید. لیبل روی ظرف‌ها را علامت‌گذاری کنید.

پروتکل استخراج DNA ژنومیک از بافت / سلول حیوانی:

مطمئن شوید که به محلول AT3 قبل از اولین استفاده مقادیر مناسب اتانول اضافه شده است. بافرهای AT1 و AT2 ممکن است رسوب تشکیل دهند. در صورت لزوم، تا ۶۰ درجه سانتیگراد گرم کنید تا رسوبات کاملاً حل شوند.

DNA RELEASE & BINDING TO THE COLUMN

۱. مطمئن شوید که به محلول AT3 قبل از اولین استفاده مقادیر مناسب اتانول اضافه شده است. بافرهای AT1 و AT2 ممکن است رسوب تشکیل دهند. در صورت لزوم، تا ۶۰ درجه سانتیگراد گرم کنید تا رسوبات کاملاً حل شوند.
۲. ۱۰ تا ۱۵ میلی‌گرم بافت (۲ میلی‌مترمکعب) را در یک میکروتیوب ۲ میلی‌لیتری وزن کنید و ۴۵۰ میکرولیتر AT1 به آن اضافه کنید.
۳. دانه‌های شیشه‌ای را اضافه کنید و ۵-۳ دقیقه ورتکس کنید. انجام بافت در نیتروژن مایع تا حد زیادی شکست بافت را افزایش می‌دهد. برای سلول‌های کشت داده‌شده، کافی است آن‌ها را به صورت پلت در یک تیوب جمع‌آوری کنید و ۴۵۰ میکرولیتر AT1 اضافه کنید.
۴. ۵ میکرولیتر Proteinase K اضافه کنید، به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس کنید و لوله را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
۵. ۴۵۰ میکرولیتر بافر AT2 اضافه کنید. محتویات را با پی‌پت کردن مخلوط کنید. لوله را به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
۶. لوله را به مدت ۲ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ کنید. این مرحله برای حذف بقایای بافت بسیار مهم است. مایع رویی را به یک تیوب جدید منتقل کنید.
۷. ۱۰ میکرولیتر RNase A اضافه کنید و به مدت ۵ ثانیه مخلوط کنید. لوله را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
۸. ۴۵۰ میکرولیتر اتانول اضافه کنید. محتویات را با پی‌پت کردن مخلوط کنید.
۹. ۷۰۰ میکرولیتر از لیزات را به داخل ستون قرار گرفته در لوله جمع‌کننده‌اش (هر دو در کیت موجود می‌باشد) منتقل کنید. ستون را در ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ کنید. مایع جمع‌شده در لوله جمع‌کننده را دور بریزید و دوباره ستون را در داخل لوله جمع‌کننده‌اش قرار دهید.
۱۰. باقی‌مانده محلول را نیز به داخل همین ستون منتقل کنید و مرحله را تکرار کنید.
۱۱. ۵۰۰ میکرولیتر از محلول AT3 به ستون اضافه کنید. ستون را با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید. مایع جمع‌شده در لوله جمع‌کننده را دور بریزید.
۱۲. بدون افزودن هیچ محلولی، لوله را یک بار دیگر با حداکثر سرعت (۱۳۰۰۰ rpm) به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
۱۳. ستون را از لوله جمع‌کننده‌اش جدا کرده و آن را در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری (پندورف) جدید قرار دهید.
۱۴. ۵۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر از محلول AT4 را به مرکز ستون اضافه کنید و به مدت ۵ دقیقه انکوبه کنید. ستون و تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری را به مدت ۱ دقیقه در ۱۰۰۰۰ rpm در دمای آزمایشگاه سانتریفیوژ کنید.
۱۵. مایع جمع‌شده در تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری را به داخل ستون برگردانید و پس از گذشت ۳ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rpm به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
۱۶. مایع جمع‌شده در تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی DNA ژنومیک است. آن را در دمای منفی ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری نمایید.

Kit components:

Buffers: AT1, AT2, AT3, AT4

Enzymes: RNase A, Proteinase K

Spin columns

Glass beads

Store all components at room temperature except the enzymes which should be stored at -20 °C.

توجه: تمامی محصولات دارای گواهی استاندارد می‌باشند. برای اطلاعات بیشتر، لطفاً به وبسایت ما مراجعه کنید. این محصول مطابق با استانداردهای بین‌المللی تولید شده است.