Nama Gene Azma

پروتکل استخراج DNA از خون

نکات مهم:

- بافرها و محلول های موجود در این کیت حاوی مواد مضر هستند و هنگام کار با آنها حتماً از دستکش و روپوش آزمایشگاهی استفاده نمایید.
- به مواد دور ریختنی این کیت به هیچ عنوان محلول های اسیدی یا آب ژاول اضافه ننمایید.
- در صورتی که در طی نگهداری کیت بویژه در دماهای پایین در بعضی از بافرها رسوبی دیده شود، با انکوباسیون ظرف مربوطه در دمای 60°C رسوبات را حل کنید.
- ویال حاوی پروتئیناز K را در دمای 20°C- نگهداری کنید.
- به محلولهای شست و شوی یک و دو (Wash Buffer I & II) به ترتیب 20ml و 40ml اتانول خالص اضافه نمایید.

- دستگاه ترموبلاک یا بن ماری را در 65°C تنظیم نمایید.
- مقداری از Elution Buffer را در این دما قرار دهید و در انتها از این بافر گرم استفاده نمایید.
- اطمینان حاصل کنید که به محلول های شست و شو اتانول اضافه کرده‌اید.

1- به یک میکروتیوب 1.5ml مقدار 200µl خون حاوی ماده ضدانعقاد EDTA اضافه نمایید.
2- به میکروتیوب حاوی نمونه خون به ترتیب 200µl **Lysis Buffer** و 10µl **پروتئیناز K** اضافه نمایید. میکروتیوب را ورتکس کرده و پس از اسپین مختصر در دمای 65ºC برای مدت ۱۵ دقیقه قرار دهید.
3- 200µl اتانول مطلق به نمونه اضافه نموده و ورتکس و اسپین کوتاه نمایید.
4- مخلوط را به ستون های استخراج که داخل لوله جمع آوری کننده قرار داده شده‌اند اضافه نمایید.
5- نمونه ها را با دور 10000 rpm برای مدت یک دقیقه سانتریفیوژ نمایید.
6- لوله جمع آوری کننده را دور انداخته و ستون استخراج را روی یک لوله جمع آوری کننده دیگر قرار دهید.
7- به ستون 500µl محلول **Wash Buffer I** اضافه نمایید. مشابه مرحله قبل در 10000 rpm برای یک دقیقه سانتریفیوژ نمایید.
8- لوله جمع آوری کننده را دور انداخته و 500µl محلول **Wash Buffer II** به هر ستون اضافه نمایید. لوله ها را در 10000 rpm برای یک دقیقه سانتریفیوژ نمایید. سپس برای ۲ تا ۳ دقیقه دیگر در دور بالا (14000 rpm) سانتریفیوژ نمایید.
9- لوله جمع آوری کننده را دور انداخته و ستون را داخل میکروتیوب 1.5ml قرار دهید. با دقت 50-100µl از محلول **Elution Buffer** گرم به وسط ستون اضافه نمایید.
10- در ستون ها را بسته و برای ۲ تا ۵ دقیقه در دمای 65ºC قرار دهید و سپس به مدت ۱ دقیقه در دور 12000 rpm سانتریفیوژ نمایید.
11- DNA حاصل را می توانید در 20ºC- نگهداری نمایید.