Nama Gene Azma

پروتکل استخراج اسید نوکلئیک ویروسی

نکات مهم:

- بافرها و محلول‌های 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 دمای 65 °C تنظیم نمایید.
- مقداری از Elution Buffer را در این دما قرار دهید و در انتها ازاین بافر گرم استفاده نمایید.
- اطمینان حاصل کنید که به محلول‌های شست و شو اتانول اضافه کرده‌اید.

1- به یک میکروتیوب حاوی 200µl از نمونه به ترتیب 200µl از **Binding Buffer** و 10µl **پروتئیناز K** اضافه نمایید. میکروتیوب را ورتکس کرده و پس از اسپین مختصر در دمای 65°C برای مدت 15 دقیقه قرار دهید.

2- 100µl ایزوپروپانول به نمونه اضافه نموده و ورتکس و اسپین کوتاه نمایید. در صورت لزوم مقدار 1-10µl نوکلئیک اسید کریر اضافه کنید.

3- مخلوط را به ستون‌های استخراج که داخل لوله جمع‌آوری کننده قرار داده شده‌اند اضافه نمایید.

4- نمونه ها را با دور 10000 rpm برای مدت یک دقیقه سانتریفوژ نمایید.

5- لوله جمع‌آوری کننده را دور انداخته و ستون استخراج را روی یک لوله جمع‌آوری کننده دیگر قرار دهید. به هر ستون 500µl محلول **Wash Buffer I** اضافه نمایید. مشابه مرحله قبل در 10000 rpm برای یک دقیقه سانتریفیوژ نمایید.

6- لوله جمع‌آوری کننده را دور انداخته و ستون استخراج را روی یک لوله جمع‌آوری کننده دیگر قرار دهید. 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.

7- لوله جمع آوری کننده را دور انداخته و ستون را داخل میکروتیوب 1.5ml قرار دهید. با دقت 50-100µl از **Elution Buffer** گرم را به وسط ستون اضافه نمایید.

8- در ستون ها را بسته و برای ۲ تا ۵ دقیقه در دمای 65°C قرار دهید و سپس به مدت ۱ دقیقه در دور 12000 rpm سانتریفیوژ نمایید.

اسید نوکلئیک حاصل را می توانید در دمای 20°C- یا 70°C- نگهداری نمایید.