

استخراج DNA از ژل

- 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 درجه سانتیگراد رسوبات را حل کنید.
 - به محلول شست و شوی دو (Wash Buffer II) 40ml اتانول خالص اضافه نمایید.
 - دستگاه ترموبلاک یا بن ماری را در دمای 50-60°C تنظیم نمایید.
 - مقداری از Elution Buffer را در این دما قرار دهید و در انتها از این بافر گرم استفاده نمایید.
- 1- با استفاده از یک تیغ تیز و تمیز بخشی از آگارز را که حاوی قطعه DNA است، جدا نمایید.
 - 2- دو تاسه برابر حجم قطعه آگارز از محلول **Lysis Buffer** اضافه نمایید و در دمای 50-60°C به مدت ۱۰ دقیقه (تا حل شدن کامل آگارز) قرار دهید. در طی این مدت می‌توانید چند بار ورتکس نمایید.
 - 3- 100µl ایزوپروپانول (هم حجم آگارز اولیه) به محلول اضافه نموده ورتکس و اسپین کوتاه نمایید.
 - 4- محلول را به ستون استخراجی که داخل لوله جمع‌آوری کننده قرار دارد اضافه نمایید و در 10000 rpm برای ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
 - 5- لوله جمع‌آوری کننده را دور انداخته و ستون استخراج را روی یک لوله جمع‌آوری کننده دیگر قرار دهید.
 - 6- 500 میکرولیتر محلول **Wash Buffer II** به هر ستون اضافه نمایید.
 - 7- لوله‌ها را در 10000 rpm برای یک دقیقه سانتریفیوژ نمایید. سپس برای ۲ تا ۳ دقیقه دیگر در دور بالا (14000 rpm) سانتریفیوژ نمایید.
 - 8- لوله جمع‌آوری کننده را دور انداخته و ستون را داخل میکروتیوب 1.5ml قرار دهید. با دقت 50µl از **Elution Buffer** گرم را به وسط ستون اضافه نمایید.
 - 9- در ستون‌ها را بسته و برای ۲ تا ۵ دقیقه در دمای 50-60°C قرار دهید و سپس به مدت 1 دقیقه در دور 12000 rpm سانتریفیوژ نمایید.
- DNA حاصل را می‌توانید در 20°C- نگهداری نمایید.