

پروتکل استخراج DNA از بزاق

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 محلول‌های 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 بن‌ماری را در دمای 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 محلول‌های شست و شو اتانول اضافه کرده‌اید.

- 1- حدود 1ml از بزاق را در دور 10000rpm برای مدت 2 دقیقه سانتریفیوژ کرده و محلول رویی را دور بریزید. در صورت لزوم می‌توانید رسوب حاصل را با PBS یک بار شست و شو دهید.
- 2- به رسوب حاصل از بزاق 200μl از **Binding Buffer** و 10μl **پروتئیناز K** اضافه نمایید و پس از ورتکس و اسپین، کوتاه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 65°C قرار دهید.
- 3- 200μl اتانول مطلق به نمونه اضافه نموده و ورتکس و اسپین کوتاه نمایید.
- 4- مخلوط را به ستون‌های استخراج که داخل لوله جمع‌آوری کننده قرار داده شده‌اند اضافه نمایید.
- 5- نمونه‌ها را با دور 10000 rpm برای مدت یک دقیقه سانتریفیوژ نمایید.
- 6- لوله جمع‌آوری کننده را دور انداخته و ستون استخراج را روی یک لوله جمع‌آوری 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 جمع‌آوری کننده را دور انداخته و 500μl محلول **Wash Buffer II** به هر ستون اضافه نمایید. لوله‌ها 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 جمع‌آوری 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.
- 10- در ستون‌ها 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.

DNA حاصل را می‌توانید در دمای -20°C نگهداری نمایید.