آماده سازی PW1 Buffer و PW2 Buffer قبل از اولین استفاده:

نام بافر	حجم	مقدار اتانول مورد نیاز (96-100%)	حجم نهایی
PW1 Buffer	8.5ml	51.5ml	60ml
Pw2 Buffer	4ml	26ml	30ml

قبل از اولین استفاده:

۱. مقدار 51.5ml اتانول (96-100%) به محلول PW1 Buffer و 26ml به محلول PW2 Buffer اضافه کنید.

نکات مهم:

- ویال Proteinase K را در دمای 20°C- نگهداری کنید.
- حجم مورد نیاز اتانول (96-100%) را در اولین استفاده به محلول PW1 Buffer و PW2 Buffer اضافه کنید.
- قبل از شروع استخراج، انکوباسیون یا حمام آب را تا دمای 60°C گرم کنید.
- قبل از شروع استخراج، اتانول مطلق را در دمای 20°C- ذخیره کنید.
- قبل از شروع استخراج، در صورت مشاهده‌ی رسوب در محلول PP1 Buffer، آن را به مدت 1-2min در دمای 40-50°C قرار دهید تا رسوبات حل شوند.

روش استخراج

۱. 450µl از محلول PP1 Buffer را به میکروتیوب 2ml اضافه کنید.

۲. مقداری بافت گیاهی داخل هاون ریخته و کامل خرد کنید یا مقداری بافت گیاه را داخل فویل آلومینیومی در نیتروژن مایع قرار داده، سپس داخل هاون کاملا پودر کنید. اگر بافت مورد نظر خشک باشد 20-40mg، یا اگر بافت تازه باشد 80-100mg برداشته و داخل میکروتیوب 2ml که از قبل لیز بافر اضافه شده، بریزید (توجه داشته باشید که از ریختن مستقیم ازت مایع روی بافت مورد نظر بپرهیزید).

۳. میکروتیوب را چند بار سر و ته کرده و به مدت چند ثانیه ورتکس کنید.

۴. 450µl از محلول PP2 Buffer را به میکروتیوب اضافه کرده، ورتکس کنید. سپس 20µl از Proteinase K را به آن اضافه کرده و به خوبی ورتکس کنید. مخلوط حاصله را به مدت 30min در دمای 60°C انکوبه کنید. در طی انکوباسیون، میکروتیوب را هر چند دقیقه یکبار به آرامی تکان دهید تا لیز سلولی به خوبی صورت گیرد.

توجه: برای حذف مقادیر احتمالی RNA، 4µl از آنزیم RNase A با غلظت 10mg/ml (از اجزای کیت نمی‌باشد) را در مرحله ۴ قبل از اضافه کردن Proteinase K اضافه کنید و چند ثانیه ورتکس کرده، سپس بقیه مراحل را ادامه دهید.

۵. پس از مدت زمان انکوباسیون میکروتیوب را در سانتریفیوژ با سرعت 14000rpm به مدت 5min قرار دهید.

۶. پس از سانتریفیوژ محلول رویی را به آرامی برداشته و به میکروتیوب 2ml دیگر منتقل کنید.

۷. روی محلول حاصله، 500µl از محلول PP3 Buffer بریزید و به آرامی میکروتیوب را سر و ته کنید.

۸. مقدار 500µl اتانول مطلق سرد روی محلول حاصله بریزید، سپس میکروتیوب را به مدت چند ثانیه سر و ته کرده و 600µl از محلول حاصله را به ستون جداسازی که در داخل تیوب جمع‌کننده قرار دارد منتقل کنید و پس از آن در سانتریفیوژ با سرعت 12000rpm به مدت 30sec قرار دهید.

۹. مایع جمع‌شده در تیوب جمع‌کننده را دور ریخته، سپس باقیمانده‌ی محلول حاصله را در دو مرحله به ستون جداسازی که در داخل تیوب جمع‌کننده قرار دارد منتقل کنید و پس از آن دوباره در سانتریفیوژ با سرعت 12000rpm به مدت 30sec قرار دهید.

۱۰. مایع جمع‌شده در تیوب جمع‌کننده را دور ریخته و ستون را مجددا در تیوب جمع‌کننده قرار دهید و از محلول PW1 buffer به میزان 700µl به ستون اضافه کنید و آن را به مدت 2min با سرعت 10000rpm سانتریفیوژ کنید.

۱۱. پس از سانتریفیوژ مایع جمع‌شده در تیوب جمع‌کننده را دور ریخته و 500µl از محلول PW1 buffer را به ستون اضافه کنید و آن را به مدت 2min با سرعت 10000rpm سانتریفیوژ کنید.

۱۲. پس از سانتریفیوژ مایع جمع‌شده در تیوب جمع‌کننده را دور ریخته و 500µl از محلول PW2 buffer را به ستون اضافه کنید و آن را به مدت 2min با سرعت 10000rpm سانتریفیوژ کنید.

۱۳. ستون را مجددا در تیوب جمع‌کننده قرار دهید و بدون اضافه نمودن هیچ گونه محلولی آن را با سرعت 14000rpm به مدت 3min سانتریفیوژ کنید.

۱۴. ستون را به داخل یک میکروتیوب 1.5ml انتقال دهید و به مقدار 30-100µl از PE buffer اضافه کنید و به مدت 5-10min در دمای اتاق انکوبه کنید.

۱۵. تیوب را به مدت 2min با سرعت 13000rpm سانتریفیوژ کنید، سپس ستون را دور انداخته و مایع جمع شده در میکروتیوب که حاوی DNA است را در دمای 20°C- نگهداری کنید.

SinaPure™ DNA

(Kit for the isolation of DNA from plant)

REF EX6131 | 50 TESTS | 15°C – 25°C

RUO

Store enzyme at -20°C

Components

Contents	Quantity/ Volume	Storage Temperature
PP1 Buffer	25ml	RT
PP2 Buffer	25ml	RT
PP3 Buffer	25ml	RT
PW1 Buffer	8.5ml	RT
PW2 Buffer	4ml	RT
PE Buffer	10ml	RT
Proteinase K (20mg/ml)	1ml	**-20˚C**
Spin Column	50pcs	RT
Collection Tube	50pcs	RT

معرفی و کاربرد

کیت استخراج DNA گیاه، روشی سریع و آسان برای استخراج DNA از بافت‌های گیاهی مختلف را فراهم می‌کند. DNA حاصل برای استفاده در فرآیندهای مختلف از جمله Conventional PCR، Real-time PCR، Southern blotting، SNP genotyping، RFLP، AFLP و RAPD مناسب می‌باشد.

علائم و راهنماها

Signs	Definitions	Signs	Definitions
	Temperature range on product use		Name and address of the manufacturer of the product
RUO	For Research Use Only		
Σ	Number of usable tests	REF	Product technical code

شکایات مشتری

نظرسنجی از مشتری

Unit 9, Rouyesh building, Science and Technology Park, Tarbiat Modares University, Pajouhesh Blvd, Tehran, Iran

+982191082111 **wwww.sinaclon.com** **hi@sinaclon.com**