



RUO

Cat Number: NAT0014

NodexBLOOD

Fresh Blood gDNA extraction kit



نو ترکیب آزما تشخیص تولید کننده و ارائه دهنده مواد و کیت های مولکولی



مسترمیکس سایبرگرین	مسترمیکس RED	خدمات تخصصی طراحی پرایمر
مسترمیکس اوآگرین	لدرهای 50 و 100	طراحی آزمایش های مولکولی
استریپ ریل تایم PCR	بافره های TE, TAE, TBE	میکروتیوب
کیت سنتز cDNA	سیف استین	سر سپلر
DEPC واتر	کیت استخراج پلاسمید	کیت MTT
پرایمرهای الیگو dT و ردوم هگزامر	کیت استخراج DNA از ژل	آگارز
محلول استخراج RNA	کیت خالص سازی محصول PCR	کلرفرم
محلول محافظت کننده RNA (RNAGuard)	لودینگ دای سبز و آبی	ایزوپروپانول
کیت استخراج RNA ستونی	کیت استخراج DNA ستونی	فنول اشباع با تریس و آب

@notarkibco

www.notarkibco.com

notarkibco@gmail.com



09190100614

تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز رشد و نوآوری





Quick Protocol

اطلاعات محصول:

کیت نودکس بلاد برای استخراج DNA ژنومی از سلول های WBC خون تازه برای تست های ژنتیکی به روش ستونی کاربرد دارد. این کیت در اندازه ۲۵ و ۵۰ تستی ارائه می شود و تنها برای مصارف تحقیقاتی (RUO) است.

شرایط نگهداری و محتوای کیت:

محتوای اصلی این کیت در دمای اتاق و پروتئیناز K و RNase A در منفی ۲۰ درجه نگهداری شود.

محتوای کیت:

بافرهای L1، L2، NB، NW، EB، آنزیمهای ProK و RNase A، ستون سیلیکا و کالکشن تیوب،

مواد و وسیله هایی که کیت ارائه نمیکند و باید قبل از انجام تست آماده کنید:

میکروتیوب ۵، ۱، ایزوپروپانول، آب دیونیزه استریل (آب تزریقی)، الکل ۹۶ درصد.

نکات مهم قبل از شروع:

****** از دستکش در کل روند استفاده کنید.

****** خون را به محض نمونه گیری در داخل لوله CBC حاوی EDTA از نوع K3 یا K2 ذخیره کنید.

****** قبل از استفاده از بافر NW برای اولین بار به مقدار ۴۸ میلی لیتر الکل ۹۶ درصد به آن اضافه کنید و قسمت مربع را تیک بزنید.

مراحل کار:

(۱) ۵۰۰ میکرولیتر از نمونه خون تازه (یا خون ذخیره شده حداکثر ۱ هفته در دمای ۴ درجه

سانتی گراد) را در یک میکروتیوب استریل ۵، ۱ بریزید. برای استخراج حداکثر DNA ژنومیک میتوانید ۳۰۰ میکرولیتر از بخش حاوی بافیکوت (بعد از سانتریفیوژ کردن کردن در دور ۲۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه) استفاده کنید.

(۲) ۱۰۰ میکرولیتر از بافر L1 را روی آن ریخته و ۹۰۰ میکرولیتر آب استریل دیونیزه به آن اضافه کنید. محلول را کامل مخلوط کرده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری کنید. هر یک دقیقه یک بار میکروتیوب را چندین بار سر و ته کنید.

(۳) محلول را در ۲۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کنید.

(۴) سوپرناتانت قرمز رنگ را به آرامی دور ریخته و پلت سفید را که حاوی سلول های WBC است نگه دارید.

(۵) ۱۰۰ میکرولیتر بافر L1 را روی سلول ها بریزید و ۹۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه استریل اضافه کنید. با پیپتاژ کردن سلول ها را کاملا ریسپسند کنید. اجازه دهید ۲ دقیقه در دمای اتاق بماند. سپس محلول را در ۲۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کنید. محلول رویی قرمز را دور ریخته و پلت سفید را نگه دارید.

(۶) ۵ میکرولیتر از RNase A را به پلت اضافه کنید.

(۷) ۲۵۰ میکرولیتر بافر L2 را بر روی پلت بریزید و کاملا پیپتاژ کنید تا پلت سلولی کاملا در بافر حل شود.

(۸) ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K را به محلول اضافه کرده و به مدت ۲۰ دقیقه بر روی ترموشکیر در دمای ۵۶ درجه و دور ۲۵۰ در دقیقه انکوبه کنید.

(۹) ۲۰۰ میکرولیتر بافر NB را بر روی لیزات ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه دیگر در دمای ۵۶ بر روی ترموشکیر در دمای ۵۶ درجه و دور ۲۵۰ در دقیقه انکوبه کنید.

(۱۰) ۲۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول به لیزات اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید.

(۱۱) یک ستون را در داخل کالکشن تیوب قرار داده و لیزات را با دقت به داخل ستون بریزید. ستون را در دور ۱۲۰۰۰ به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ کنید.

(۱۲) محلول جمع شده در داخل کالکشن تیوب را دور ریخته و ستون را دوباره داخل کالکشن تیوب قرار دهید. ۷۵۰ میکرولیتر از بافر NW (مطمئن شوید الکل ۹۶ درصد به این بافر اضافه شده است) داخل ستون بریزید و یک دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ کنید.

(۱۳) محلول جمع شده در داخل کالکشن تیوب را دور ریخته و ستون را دوباره داخل کالکشن تیوب قرار دهید. ۵۰۰ میکرولیتر از بافر NW داخل ستون بریزید و به مدت یک دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ کنید. محلول جمع شده در کالکشن تیوب را دور بریزید.

(۱۴) یک بار دیگر ستون خالی داخل کالکشن تیوب را به مدت ۲ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ کنید تا باقی مانده محلول شست و شو کاملا از ستون خارج شود.

(۱۵) ستون را به داخل یک کالکشن تیوب 1.5 ml تازه استریل منتقل کنید. ۱۵۰ میکرولیتر بافر EB گرم شده در دمای ۶۵ درجه را به ستون اضافه کنید. و به مدت ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید.

(۱۶) ستون را در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ کنید. مایع جمع شده در کالکشن تیوب حاوی DNA خالص است. آن را برای غلظت سنجی و تست خود استفاده کنید یا برای تست های بعدی در دمای 20- درجه نگهداری کنید.