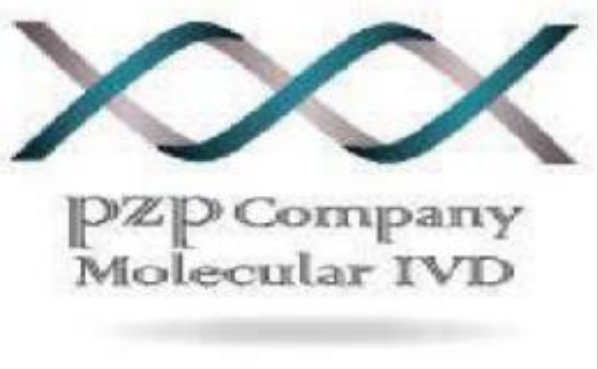

Pure Quality

Formalin-Fixed Paraffin Embedded Tissue

Nucleic Acid Template Extraction Kit

Version 2.1

For 50 Tests

Made in Iran

Assemble in PZP Co

محتویات کیت :

۱- Proteinase K Lyophilized powder (2X)

۲- H-Buffer

۳- L-Buffer

۴- B-Buffer

۵- R-Buffer

۶- W-Buffer

۷- E-Buffer

۸- Column Bag (50 pcs)

۹- Collection Tube (150 pcs)

موادی که جزء اجزاء کیت نیست و باید قبل از شروع، تهیه شوند:

- اتانول ۱۰۰٪ یا ۹۸٪

A آماده سازی وتنظیم حجم نمونه:

۱- داخل کیت ۲ ویال(حاوی 20 mg) پودر پروتیناز K قرار داده شده است که قبل از شروع کار باید به صورت محلول در آید. درون هر ویال 1 ml بافر E اضافه نموده و بطور کامل حل نمایید. پس از محلول سازی، محلول پروتیناز K باید در 20 °C- نگهداری شود.

۲- مقدار مناسب از برش های نازک بافت پارافینه را درون میکروتیوب ۱/۵ آماده نمایید.

B جداسازی اسید نوکلئیک از بافت پارافینه

توجه: بافر E را پیش از شروع کار در دمای ۷۰°C + (Hot Plate) گرم نمایید.

۱- به میکروتیوب ۱/۵ حاوی بافت پارافینه ، ۱۶۰ میکرولیتر بافر H اضافه کرده و به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس کرده و به مدت ۳ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد اینکوبه می نماییم.

۲- سپس ۸۰ میکرولیتر بافر L و ۴۰ میکرولیتر پروتیناز K به میکروتیوب مرحله قبل اضافه نموده، سپس ورتکس کرده و به مدت ۱ ساعت در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد اینکوبه می نماییم.

۳- در مرحله بعد مجددا میکروتیوب را به مدت ۱ ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد اینکوبه نمایید.

۴- سپس در مرحله بعدی، فاز زیرین (فاز آبی که در بخش پایینی میکروتیوب قرار دارد) را جدا کرده و درون میکروتیوب استریل جدیدی انتقال دهید.

۵- به میکروتیوب جدید ۱۰۰ میکرولیتر بافر E اضافه می نماییم. سپس ۲۰۰ میکرولیتر بافر B اضافه نموده و ورتکس نمایید. در مرحله بعد ۲۰۰ میکرولیتر اتانول مطلق یا ۹۸٪ اضافه نموده و ورتکس نمایید.

۶- یک ستون فیلتردار را درون یک تیوب collection قرار دهید و با مارکر درب ستون های نمونه های مختلف را نامگذاری نمایید.

۷- تمامی محتویات میکروتیوب در مرحله ۵ را به درون ستون انتقال دهید و در دور rpm ۱۴۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه سانتریفوژ نمایید.

۸- ستون را درون تیوب collection جدید قرار دهید و تیوب collection قبلی را دور بیندازید. سپس به داخل هر ستون ۵۰۰ میکرولیتر بافر R اضافه نموده و مجددا در دور rpm ۱۴۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه سانتریفوژ نمایید.

۹- مجددا ستون را درون تیوب collection جدید قرار دهید و تیوب collection قبلی را دور بیندازید. سپس ۵۰۰ میکرولیتر بافر W به ستون اضافه نموده و در دور rpm ۱۴۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه سانتریفوژ نمایید. محتویات تیوب collection را دور ریخته و مجددا ستون را داخل آن قرار دهید. مجددا ۵۰۰ میکرولیتر بافر W به ستون

اضافه نموده و سپس در دور rpm ۱۴۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه سانتریفوژ نمایید.

۱۰- در مرحله بعد تیوب collection قبلی را دور بیندازید و ستون را درون یک تیوب collection جدید قرار دهید و در دور rpm ۱۴۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه سانتریفوژ نمایید.

۱۱- ستون را به داخل یک میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری استریل قرار دهید. سپس ۸۰- ۴۰ میکرولیتر (بر اساس مقدار بافت اولیه) بافر E گرم شده روی فیلتر ستون اضافه نمایید. به مدت ۵ دقیقه صبر کرده و سپس در دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه سانتریفوژ نمایید.

۱۲- ستون را دور بیندازید. حال میکروتیوب ۱/۵ حاوی اسید نوکلئیک استخراج شده را ورتکس و سپس اسپین نمایید. حال میتوانید آن را مستقیما مورد استفاده قرار دهید یا در دمای °۲۰C – برای بررسی بعدی ذخیره نمایید.