



RNA Extraction Kit

www.genexlabco.ir

سلول گستر کارا ژن

تولید و واردات کیت، مواد شیمیایی، دستگاه و مواد مصرفی آزمایشگاهی

آدرس: تهران خیابان طالقانی روبرو سفارت آمریکا پلاک ۲۱۰ واحد ۱

تلفن: ۰۲۱۸۸۳۰۴۲۸۸ - ۰۹۹۲۴۰۴۴۲۱۱

buffer	50 reaction	100 reaction	storage temp
Lysis buffer	40 ml	80 ml	4 C ⁰
precipitation	20 ml	40 ml	room temp
wash buffer I	35 ml	70 ml	room temp
wash buffer II	35 ml	70 ml	room temp
spin column	50 n	100 n	room temp
DEPC	3 ml	6 ml	4 C ⁰

بافت: به ۸۰-۲۵ میلی گرم از بافت، ۳۰۰ میکرو لیتر **lysis buffer** اضافه نمایید.

بافت را روی یخ با هموژنایزر یا به صورت دستی به شدت هموژن کنید.

۵۰۰ میکرو لیتر **lysis buffer** اضافه نمایید و ۱۵ ثانیه به شدت ورتکس نمایید. (ادامه پروتکل از مرحله ۱)

گیاه: بافت گیاهی را ۳ دقیقه داخل ازت پودر کرده و به آن ۸۰۰ میکرو لیتر **Lysis buffer** اضافه نمایید.

۱۵ ثانیه به شدت ورتکس و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شود. (ادامه پروتکل از مرحله ۱)

سلول: به سلول ۸۰۰ میکرو لیتر **Lysis buffer** اضافه شود و به خوبی پیپتینگ و سپس به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس نماید. (ادامه پروتکل از مرحله ۱)

باکتری: به ۲-۳ کلون باکتری (۱/۵ میلیارد باکتری) ۳۰۰ میکرولیتر آب استریل اضافه نمایید.

۲۰ میکرولیتر آنزیم لیزوزیم با غلظت ۲۰ mg/ml اضافه شود و به شدت ورتکس نمایید.

به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد روی شیکر انکوبه شود و هر ۵ دقیقه ورتکس نمایید (برای باکتری های گرم مثبت تا یک ساعت انکوبه کنید و در صورت امکان از آنزیم لیزواستافین استفاده نمایید. (ادامه پروتکل از مرحله ۱)

خون: به ۱۰۰ میکرولیتر از خون ، ۵۰۰ میکرولیتر **Lysis buffer** اضافه کرده و به شدت ورتکس نمایید.

۳۶۰ میکرولیتر **precipitation** اضافه کنید و به شدت ورتکس نمایید. (ادامه پروتکل از مرحله ۵)

مرحله اول: ۳۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه شود و به شدت ورتکس نمایید.

مرحله دوم: ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شود.

مرحله سوم: ۵ دقیقه دمای ۴ درجه سانتی گراد ۱۲۰۰۰rpm یا ۱۰۰۰۰ G سانتریوفیوژ شود.

مرحله چهارم: پس از تشکیل ۳ فاز، فاز رویی را به میکروتیوب جدید انتقال دهید و سپس ۳۰۰ میکرولیتر **precipitation** اضافه کنید و به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس نمایید.

مرحله پنجم: ستون را در زیر ستون قرار داده و محتویات میکروتیوب مرحله قبل را به ستون اضافه کرده و سپس ۳۰ ثانیه در دمای اتاق ۱۲۰۰۰rpm یا ۱۰۰۰۰ G سانتریوفیوژ کنید و در نهایت محتویات زیر ستون را خالی کنید.

مرحله ششم: ۷۰۰ میکرولیتر **wash buffer I** اضافه کرده و در دمای اتاق ۹۰ ثانیه با دور ۱۲۰۰۰rpm یا ۱۰۰۰۰ G سانتریوفیوژ کنید و در نهایت محتویات زیر ستون را خالی کنید.

مرحله هفتم: ۷۰۰ میکرولیتر **wash buffer II** اضافه کرده و در دمای اتاق ۳۰ ثانیه با دور ۱۲۰۰۰rpm یا ۱۰۰۰۰ G سانتریوفیوژ کنید و در نهایت محتویات زیر ستون را خالی کنید.

مرحله هشتم: ستون را به مدت ۳ دقیقه در دمای اتاق با دور ۱۲۰۰۰rpm یا ۱۰۰۰۰ G سانتریوفیوژ کنید و سپس زیر ستون را out کنید.

مرحله نهم: ستون را در یک میکروتیوب استریل جدید قرار دهید و به آن ۱۰۰-۵۰ میکرولیتر **DEPC** اضافه کنید.

مرحله دهم: ستون را به مدت ۳ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد انکوبه نمایید.

مرحله یازدهم: ستون را به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق با دور ۱۰۰۰۰rpm یا ۱۰۰۰۰ G سانتریوفیوژ کنید و سپس غلظت **RNA** را با نانودراپ مشاهده کنید.