

PCR Product Purification Kit

مواد و اجزا	تعداد/حجم	دمای نگهداری
Binding Buffer	30 ml	دمای محیط (15-25°C)
Wash Solution* (concentrate)	10 ml	
Elution Buffer	5 ml	
Spin Columns	50	
collection tubes	100	
Protocol	1	



* در صورت مشاهده رسوب در بافر Wash Solution به منظور حل شدن کامل رسوب، قبل از استفاده، بافر را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵°C انکوبه نمایید.

این کیت جهت خالص سازی قطعات محصول PCR و همچنین خالص سازی سایر واکنشهای آنزیمی دارای DNA (هضم آنزیمی و...) می باشد و DNA تک رشته ای و دو رشته ای را با روشی ساده و تخلیص سریع استخراج میکند.

لوازم مورد نیاز:

- اتانول مطلق
- میکروتیوب ml ۱/۵ استریل
- سانتریفیوژ

PCR Clean up Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

۱۰۰ μ PCR محصول
(قطعات DNA مورد استفاده حداقل، ۱۰۰ bp و کمتر از ۵۰ kb باشند).

دستور العمل:

۱. ۱۰۰ µl محصول PCR را به یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل انتقال دهید و ۵۰۰ µl از Binding Buffer اضافه نمایید.
۲. ستون را داخل کالکشن قرار داده و نمونه را به داخل ستون پیپت نمایید. سپس آن را در دمای اتاق (۱۵-۲۵ °C) به مدت ۳۰ ثانیه با دور ۸۰۰۰ rpm سانتیفریوژ نمایید.
۳. محتوای کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در کالکشن قرار داده، ۷۰۰ µl محلول Wash Solution به آن اضافه کنید و در دمای محیط به مدت ۳۰ ثانیه با دور ۸۰۰۰ rpm سانتیفریوژ نمایید.
۴. محتوای کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید. ستون کالکشن خالی را در دمای محیط به مدت ۳ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتیفریوژ نمایید.
۵. کالکشن را دور بیندازید و ستون را درون یک میکروتیوب ۱/۵ ml قرار دهید.
۶. ۵۰ µl محلول Elution Buffer به مرکز ستون اضافه کنید و سپس به مدت ۲ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتیفریوژ نمایید.

راهنمای عیب‌یابی:

ایرادات	دلایل احتمالی	پیشنهادهای
عدم مشاهده نتیجه یا بازدهی کم	عدم نگهداری کیت در دمای تعیین شده	کیت در دمای ذکرشده نگهداری شود.
	اتانول مطلق به محلول Wash Solution اضافه نشده است.	پس از اضافه نمودن اتانول مطلق به Wash Solution آن را در دمای اتاق نگهداری نمایید. همواره بر روی بطری Wash Solution مشخص نمایید.
	کم بودن مقدار DNA در محصول PCR	حجم محلول Elution Buffer را کاهش دهید. کمتر از ۵۰ میکرو لیتر از Elution Buffer استفاده نکنید.
	در محصول PCR، تکثیر نمونه مورد نظر انجام نشده است.	قبل از اجرای عملیات استخراج، نتایج PCR را بر روی ژل آگارز کنترل کنید.
	بیش از ۱۰۰ میکرو لیتر از محصول PCR استفاده شده است.	نمونه اولیه را به میزان گفته شده در پروتوکول استفاده نمایید.
بازدهی کم استخراج پس از مرحله Elution	نمونه PCR و Binding Buffer به خوبی با یکدیگر مخلوط نشده اند.	پس از افزودن هر محلول به نمونه اولیه آن را به خوبی مخلوط نمایید.
	از مواد نامناسب برای مرحله Elution Buffer استفاده شده است.	برای مرحله Elution از آب استفاده نکنید. از محلول Elution Buffer موجود در کیت استفاده نمایید.
	مرحله Elution به طور کامل انجام نشده است.	اطمینان حاصل کنید که بافر Elution مستقیماً به مرکز ستون ریخته می شود تا غشا ستون کاملاً پوشانده شود و شستشو کارآمد باشد. حجم Elution بیشتر و زمان انکوباسیون طولانی تر می تواند بازده DNA از ستون را افزایش دهد.
نمونه استخراج شده به راحتی درون چاهک ژل آگارز لود نمی شود و بیرون ریزی بوجود می آید.	محصول استخراج شده، آلوده به اتانول موجود در Wash Solution است.	DNA را با دو حجم از Elution Buffer (هرکدام ۵۰ میکرو لیتر) شستشو دهید و پس از هربار افزودن Elution Buffer نمونه را سانتریفیوژ نمایید.
	بهدلیل اختلاف در PH، صرفاً از محلول Elution Buffer موجود در کیت استفاده نمایید.	گرم کردن بافر Elution تا ۶۰ درجه سانتیگراد قبل از انجام مرحله elution و افزایش زمان انکوباسیون پس از افزودن بافر به مدت ۵ دقیقه می تواند عملکرد را بهبود بخشد.
کاهش عملکرد استخراج بدلیل استفاده از آب به جای Elution Buffer	به جای Elution Buffer از آب استفاده شده است.	۱. پس از آخرین مرحله شستشو اطمینان حاصل کنید که محتویات داخل کالکشن، تماسی با قسمت انتهایی ستون نداشته باشد. ۲. اگر این مشکل بروز کرد، محتویات کالکشن را خالی کنید و مجدداً ستون را در آن قرار داده و برای مدت ۳۰ ثانیه در ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ نمایید.