



Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen 434 bp đặc hiệu cho HBV trên bản gel agarose 1% sau khi tinh sạch bằng kit ANAPURE PCR PRODUCT & GEL PURIFICATION MINI KIT (giếng 1, 2), so sánh với các kit nhập ngoại đối chứng (giếng 3, 4, 5) và sản phẩm PCR trước khi tinh sạch (giếng 6).

BẢO QUẢN & ĐỘ BỀN VỮNG

Bảo quản kit ở nhiệt độ phòng. Thời gian sử dụng 18 tháng kể từ ngày sản xuất. Trong thành phần **Binding Buffer** có chứa muối **guanidine** để hình thành tủa khi nhiệt độ dưới 15°C, vì vậy nếu có sự tạo thành tủa trong đệm này hãy làm tan chúng ở 65°C trong 1 giờ.

THÔNG TIN AN TOÀN

Binding Buffer có chứa hỗn hợp các muối có thể gây dị ứng. Cần tránh các đệm này tiếp xúc trực tiếp với mắt và da. Mặc quần áo bảo hộ và đeo găng tay khi tiến hành với các đệm này.

Sản phẩm của Công ty cổ phần ANABIO Research & Development, sản xuất theo TCCS 76: 2015/ANA, dưới bản quyền công nghệ chuyển giao độc quyền từ Phòng Thí Nghiệm Trọng Điểm Công Nghệ Enzyme và Protein, Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên, Đại Học Quốc Gia Hà Nội..

Địa chỉ: Số 22, Lô 7, Khu đô thị Văn Khê, Hà Đông, Hà Nội,

Tel: 84-4-22253211; <http://anabio.com.vn>.

Tư vấn khoa học về bộ kit: 01644475945, e-mail: techservice@anabio.com



Thành phần	Cat. No.	Lượng
ANAPURE filter spin column	SC01	50 cột
ANAPURE collection tube	CT01	50 ống
Binding Buffer	BB06	50 ml
Washing Buffer	WB-02	15 ml (đậm đặc)
Elution Buffer	EB02	15 ml

ANAPURE PCR PRODUCT & GEL PURIFICATION MINI KIT được chế tạo với mục đích tinh sạch sản phẩm PCR (prPCR) hay băng ADN được phân tách trên bản điện di gel agarose một cách đơn giản, nhanh chóng và hiệu quả.

Cột lọc màng silica **ANAPURE FILTER SPIN COLUMN** là thành phần chủ yếu của bộ kit, có khả năng liên kết hiệu quả với DNA. Các đệm kèm theo được chuẩn hóa cho việc tinh sạch sản phẩm PCR hay tinh sạch băng DNA có kích thước mong muốn trong bản điện di gel agarose (ví dụ sau phản ứng cắt bởi enzyme giới hạn).



NGUYÊN LÝ

Để tinh sạch sản phẩm PCR (prPCR), đầu tiên dịch sản phẩm sẽ được hòa trong Binding Buffer. Sau đó, toàn bộ lượng dịch được đưa vào **ANAPURE FILTER SPIN COLUMN** để tạo liên kết giữa ADN và màng xốp silica trong điều kiện nồng độ muối chaotropic cao và pH thấp của Binding Buffer. Một bước rửa nhanh với Washing Buffer giúp loại bỏ các muối và tạp chất. Cuối cùng, prPCR được chiết đầy trong Elution Buffer với nồng độ muối thấp và pH cao. prPCR tinh sạch có thể sử dụng cho các ứng dụng mong muốn như phản ứng cắt với enzyme giới hạn, giải trình tự hay các ứng dụng y sinh học khác.

Để tách chiết ADN từ bản điện di gel agarose, đầu tiên băng ADN mong muốn sẽ được cắt và chuyển vào ống eppendorf mới vô trùng. Tiếp theo, Binding Buffer sẽ được bổ sung đồng thời ủ hỗn hợp với nhiệt độ cao để làm tan chảy hoàn toàn agarose. Sau đó quy trình lặp lại từ bước gắn cột, rửa, chiết đầy ADN như đối với tinh sạch sản phẩm PCR.

HÓA CHẤT & CÁC THIẾT BỊ CẦN CHUẨN BỊ

- Ethanol tuyệt đối (96-100^o), isopropanol
- Ống eppendorf, pipet và tip vô trùng
- Bể ổn nhiệt, máy ly tâm

PHƯƠNG PHÁP**Trước khi tách chiết**

- Bổ sung 35 ml ethanol 96-100^o vào 15 ml Washing Buffer đậm đặc (WB-02).
- Đặt nhiệt độ cho bể ổn nhiệt ở 65°C

Quy trình tinh sạch sản phẩm PCR

- 1 Thêm **250 µl Binding Buffer** và **150 µl isopropanol** cho mỗi **50 µl** sản phẩm PCR. Vortex mẫu **10-15 giây** hoặc pipet lên xuống **3-5 lần**.
- 2 Chuẩn bị cột lọc **SC01** (ANAPURE filter spin column) đặt lên ống thu dịch **CT01** (ANAPURE collection tube), sau đó đưa tối đa **700 µl** mẫu ở bước 1 lên cột.

- 3 Ly tâm cột lọc- ống thu dịch **SC01-CT01** ở tốc độ tối đa **12.000 rpm** trong **1 phút**. Đổ bỏ dịch trong ống thu dịch.

Chú ý: nếu thể tích sau phản ứng ở bước 1 lớn hơn 700 µl thì lặp lại bước 2-3.

- 4 Thêm **500 µl Washing Buffer** vào cột lọc **SC01**.

- 5 Lặp lại bước 3 và bước 4.

- 6 Ly tâm cột lọc- ống thu dịch **SC01-CT01** ở tốc độ tối đa **12.000 rpm** trong **2 phút**. Đổ bỏ dịch trong ống thu dịch.

Chú ý: cần loại bỏ hoàn toàn WB vì WB ảnh hưởng tới hiệu suất tách chiết ADN

- 7 Nhấc cột lọc **SC01** chuyển sang ống thu mẫu eppendorf 1,5 ml vô trùng mới.

- 8 Thêm **50-200 µl Elution Buffer** vào trung tâm của cột lọc **SC01**. Ly tâm cột lọc-ống eppendorf ở tốc độ tối đa **12.000 rpm** trong **1 phút**.

- 9 Thu dịch chảy qua cột chứa ADN trong ống eppendorf. Bảo quản sản phẩm ADN tinh sạch ở -20°C hoặc sử dụng ngay cho ứng dụng mong muốn.

Quy trình tách chiết ADN từ gel agarose

- 1 Cắt băng ADN mong muốn trên bản điện di gel-agarose và cân khối lượng gel.
- 2 Thêm **Binding Buffer** với tỉ lệ **3 µl đậm/ 1 mg** gel-agarose
- 3 Ủ ở **65°C** trong vòng **10 phút** hoặc đến khi gel tan hoàn toàn.
- 4 Bổ sung **isopropanol lạnh tuyệt đối** với tỉ lệ **1ul/ 1mg** gel. Vortex mẫu **10-15 giây** hoặc pipet lên xuống **3-5 lần**.
- 5 Lặp lại từ bước 2 đến bước 9 của **Quy trình tinh sạch sản phẩm PCR**

Chú ý: tất cả các bước ly tâm được thực hiện ở nhiệt độ phòng

