



Tháng 07 năm 2022

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

TracePure™ Kit tinh sạch DNA từ gel

Tinh sạch DNA từ gel agarose (TBE hoặc TAE)

Mã sản phẩm: TP0322



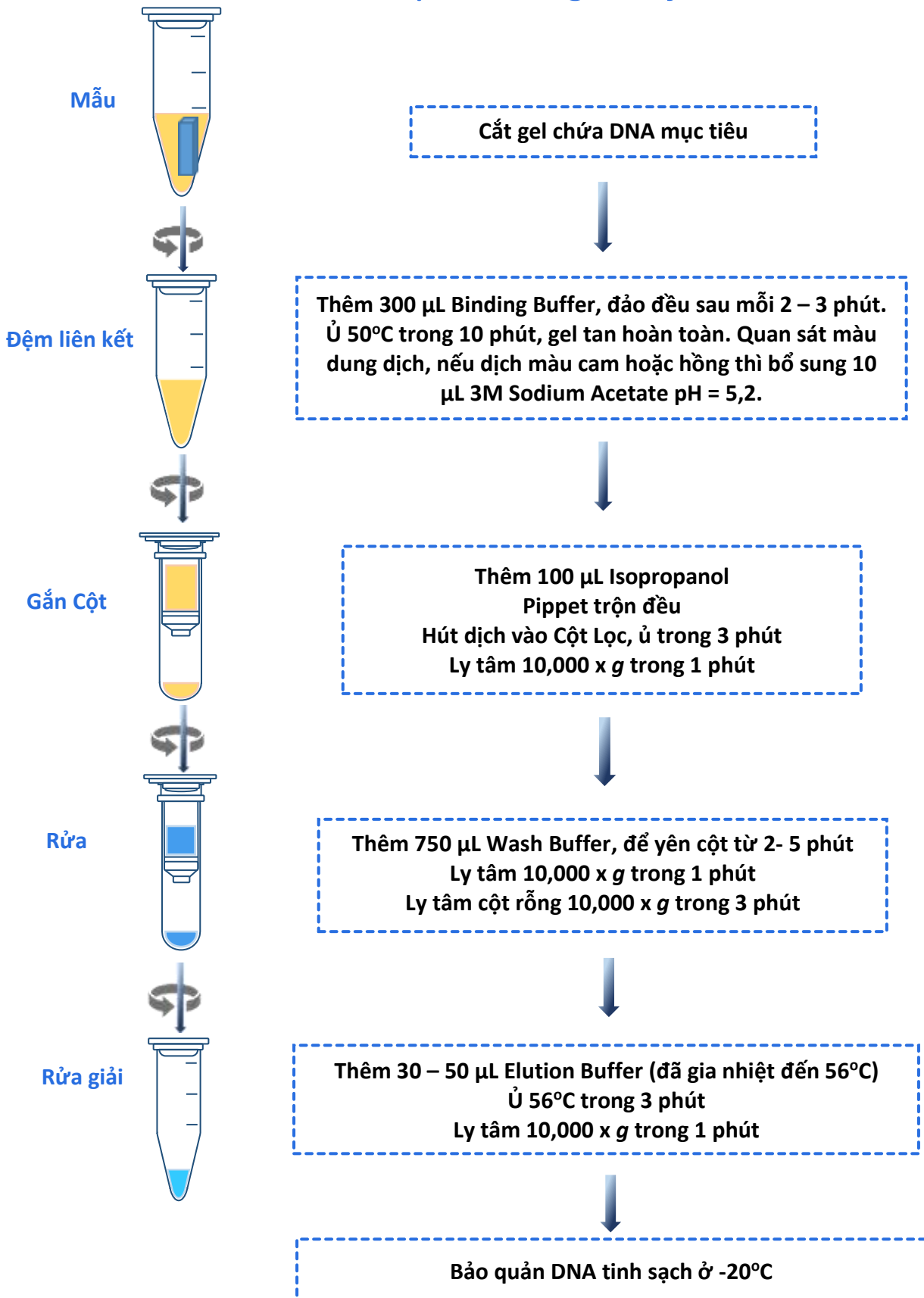
Công ty TNHH Thiết Bị Khoa Học LABone
Số 228/13/3 Nguyễn Thị Lăng, Xã Tân Phú Trung, Huyện Củ Chi, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.
Hotline: 0919 990 267 Email: info@labone.vn Website: <https://labnova.vn/>



Nội dung

TracePure™ Kit tinh sạch DNA từ gel– Quy trình tóm tắt.....	1
Thông tin sản phẩm.....	2
Mô tả sản phẩm	2
Thành phần bộ kit và điều kiện bảo quản	3
Thông tin quan trọng.....	4
Thiết bị, vật tư không kèm theo	4
Hướng dẫn chung cho chuẩn bị dung dịch.....	4
Hướng dẫn pha hóa chất và dung dịch.....	4
Chỉ thị pH.....	4
Chuẩn bị dung dịch rửa Wash Buffer	5
Chuẩn bị dung dịch rửa giải Elution Buffer.....	5
Quy trình tách chiết Gel	5
Quy trình tinh sạch DNA từ phản ứng enzyme.....	7
Vấn đề thường gặp và cách khắc phục	7

TracePure™ Kit tinh sạch DNA từ gel– Quy trình tóm tắt



Thông tin sản phẩm

Mô tả sản phẩm

Bộ kit TracePure™ Kit tinh sạch DNA từ gel được sử dụng nhằm mục đích thu hồi và tinh sạch đoạn DNA (70 bp – 10 Kb) một cách nhanh chóng và hiệu quả cao.

Bộ kit tách chiết gel dựa trên công nghệ màng silica tích hợp trong Cột lọc (spin column) để tinh sạch các đoạn DNA từ gel hoặc trong phản ứng enzyme. Trong quá trình tách chiết, DNA được gắn trực tiếp lên cột, những thành phần khác như nucleotide, enzyme, muối, agarose và các tạp chất khác sẽ bị loại bỏ bằng phương pháp ly tâm tốc độ cao. Thông qua bước rửa tiếp theo, những chất tạp nhiễm được rửa bỏ hoàn toàn và đoạn DNA từ 70 bp – 10 kb được thu nhận bằng dung dịch rửa giải. Chất chỉ thị pH cho phép xác định độ pH tối ưu để DNA liên kết cột. Vật liệu di truyền được thu nhận có thể sử dụng trực tiếp trong giải trình tự, cắt giới hạn, tạo dòng, và các ứng dụng khác.

Thành phần bộ kit và điều kiện bảo quản

Những thành phần cơ bản của TracePure™ Kit tinh sạch DNA từ gel cũng như điều kiện bảo quản được thể hiện trong bảng dưới:

Thành phần	50 phản ứng TP0322.050	100 phản ứng TP0322.100	250 phản ứng TP0322.250	Bảo quản
Binding Buffer*	30 mL	60 mL	150 mL	Nhiệt độ phòng (15 – 25°C)
Wash Buffer (dung dịch gốc)	10 mL (bổ sung 40 mL ethanol tuyệt đối)	20 mL (bổ sung 80 mL ethanol tuyệt đối)	50 mL (bổ sung 200 mL ethanol tuyệt đối)	
Elution Buffer	5 mL	10 mL	25 mL	
Cột Lọc đặt trong Ống Thu thể tích 2 mL	50 cái	100 cái	250 cái	
Ống Thu thể tích 1.5 mL	50 cái	100 cái	250 cái	

*Chứa Guanidine Thiocyanate

Quy trình

Thông tin quan trọng

- Kiểm tra đầy đủ thông tin và điều kiện bảo quản của các hóa chất theo hướng dẫn ở trang 3.
- Luôn luôn mang găng tay và các trang thiết bị bảo hộ cần thiết.

Thiết bị, vật tư không kèm theo

- Micropipette cho các khoảng thể tích khác nhau
- Đầu tip có lọc vô trùng, thể tích khác nhau
- Máy vortex trộn mẫu
- Máy ly tâm, máy ly tâm nhẹ spindown
- Bể ủ nhiệt hoặc máy ủ
- Ethanol tuyệt đối (96 – 100%)
- Isopropanol (100%)
- 3M Sodium Acetate pH 5,2

Hướng dẫn chung cho chuẩn bị dung dịch

- Đọc kỹ hướng dẫn sử dụng từ nhà sản xuất, thực hiện theo đúng các chỉ dẫn đã được đưa ra.
- Đảm bảo các hóa chất đã được chuẩn bị đúng cách và đầy đủ theo khuyến cáo.
- Trước khi tiến hành thí nghiệm, cần kiểm tra vệ sinh khu vực làm việc, kiểm tra và đảm bảo rằng các thiết bị và hóa chất cần thiết đã có sẵn để sẵn sàng thực hiện.
- Các chất thải mẫu và hóa chất phải được xử lý theo đúng quy trình tại phòng xét nghiệm.
- Quá trình sử dụng bộ kit phải được thực hiện cẩn thận, đảm bảo kết quả nhất quán và chính xác.

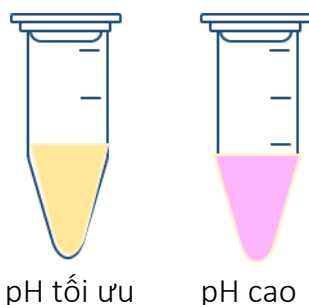
Hướng dẫn pha hóa chất và dung dịch

- Đảm bảo chuẩn bị các hóa chất đúng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Nếu xuất hiện kết tủa muối thì tiến hành hòa tan kết tủa bằng cách ủ dung dịch ở 37°C, khi tủa đã tan hoàn toàn, tiếp tục bảo quản dung dịch ở nhiệt độ phòng.
- Đánh dấu kỹ các loại hóa chất khác nhau ngay khi hoàn thành công việc chuẩn bị.

Chỉ thị pH

Chất chỉ thị pH đã được trộn trước với Binding Buffer để đảm bảo độ pH tối ưu, tạo điều kiện thuận lợi cho DNA liên kết vào màng silica và cho phép dễ dàng quan sát

gel được hòa tan. Nếu pH vượt quá mức tối ưu (> 7,5), màu của dung dịch sẽ xuất hiện màu hồng hoặc cam. Khi đó, cần bổ sung một lượng nhỏ Sodium Acetate 3M để điều chỉnh độ pH và chuyển màu dung dịch về màu vàng (tương tự màu Binding Buffer).



Chuẩn bị dung dịch rửa Wash Buffer

Dung dịch Wash Buffer được cung cấp dưới dạng cô đặc, cần tiến hành pha loãng với ethanol tuyệt đối trước khi sử dụng. Thể tích ethanol tuyệt đối thêm vào được thể hiện trong bảng sau:

Số phản ứng	Wash Buffer		
	50	100	250
Thể tích cô đặc	10 mL	20 mL	50 mL
Thể tích ethanol tuyệt đối (96 – 100%)	40 mL	80 mL	200 mL
Tổng thể tích dung dịch	50 mL	100 mL	250 mL

Chuẩn bị dung dịch rửa giải Elution Buffer

Gia nhiệt Elution Buffer lên nhiệt độ 56°C trước khi sử dụng bằng bể ủ nhiệt hoặc máy ủ lắc.

Quy trình tách chiết Gel

- Binding Buffer chứa Guanidine Thiocyanate là thành phần ly giải tế bào chính, có khả năng gây kích ứng da và mắt. Cần mang găng tay trong suốt quá trình thực hiện, nếu găng tay bị vấy bẩn bởi dung dịch tách chiết, cần thay mới.
- Trước khi tiến hành thí nghiệm, chuẩn bị sẵn máy ủ lắc được gia nhiệt đến 50°C.
- Tất cả các bước ly tâm đều được thực hiện ở nhiệt độ phòng (15 – 25°C).
- Đảm bảo rằng Wash Buffer đã được bổ sung ethanol.

- Ở các bước thêm dung dịch vào Cột, cần thực hiện nhẹ nhàng, tránh chạm vào lớp màng silica làm ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm tách chiết.
- Đổi đầu tip có lọc mới sau mỗi lần hút dung dịch.
- Chuẩn bị Binding Buffer và Elution Buffer theo hướng dẫn.

Quy trình tách chiết DNA từ gel của TracePure™ Kit tinh sạch DNA từ gel được thực hiện trên **100 mg (~100 µL)** gel:

Công đoạn	Quy trình thực hiện
Chuẩn bị mẫu	Cắt miếng gel chứa DNA mục tiêu. Chuyển vào ống ly tâm 1.5 mL và cân gel.
Đệm liên kết mẫu	<ol style="list-style-type: none"> 1. Thêm 300 µL Binding Buffer vào 100 mg (~100 µL) gel đã cắt (chứa trong ống ly tâm 1.5 mL). Đối với nồng độ gel (>2%), cho 600 µL Binding Buffer. 2. Ủ mẫu ở 50 °C trong bể ủ nhiệt hoặc máy ủ lắc đến khi mẫu đã tan hoàn toàn (10 phút). <p>Sau khi bổ sung Binding Buffer, kiểm tra màu dung dịch. Nếu dung dịch màu vàng, pH đã được tối ưu; tiến hành bước tiếp theo. Tuy nhiên, nếu dịch sau khi trộn chuyển sang màu hồng hoặc cam thì thêm 10 µL Sodium Acetate 3M (pH 5.2) cho đến khi đạt được độ pH tối ưu (dung dịch màu vàng nhạt), sau đó tiếp tục thực hiện quy trình.</p> <ol style="list-style-type: none"> 3. Ly tâm nhẹ 3 – 5 giây để thu hết dung dịch trên nắp ống.
Gắn mẫu vào Cột Lọc	<ol style="list-style-type: none"> 4. Thêm 100 µL isopropanol (100%) và trộn đều bằng pipette. 5. Ly tâm nhẹ 3 – 5 giây để thu hết dung dịch trên nắp ống. 6. Ủ mẫu ở nhiệt độ phòng trong 3 phút. 7. Chuyển dung dịch ly giải (~ 550 µL) vào Cột Lọc được chứa trong Ống Thu 2 mL, ủ 3 phút. 8. Ly tâm 1 phút ở tốc độ 10.000 x g.
Rửa mẫu	<ol style="list-style-type: none"> 9. Nhẹ nhàng tháo gỡ Cột Lọc ra khỏi Ống Thu, loại bỏ Ống Thu chứa dung dịch qua màng. Đặt Cột Lọc vào 1 Ống Thu mới thể tích 2 mL. 10. Thêm 750 µL dung dịch rửa Wash Buffer (đã được bổ sung ethanol) vào Cột. Ủ 2 – 5 phút.

	<p>11. Ly tâm 1 phút ở tốc độ 10.000 x g.</p> <p>12. Nhẹ nhàng tháo gỡ Cột Lọc ra khỏi Ống Thu, đổ bỏ dung dịch qua màng và gắn Cột Lọc vào lại trong ống thu 2 mL này (tái sử dụng Ống Thu).</p> <p>13. Ly tâm Cột rỗng ở tốc độ tối đa 10.000 x g trong vòng 3 phút.</p>
Rửa giải	<p>14. Nhẹ nhàng tháo gỡ Cột Lọc ra khỏi Ống Thu, loại bỏ Ống Thu chứa dung dịch qua màng. Đặt Cột Lọc vào ống ly tâm mới 1,5 mL.</p> <p>15. Thêm 30 µL - 50 µL dung dịch rửa giải Elution Buffer (đã được ủ đến 56 °C) vào vị trí giữa Cột (tránh chạm vào màng silica).</p> <p>16. Ủ 1 – 3 phút ở trong bể nhiệt hoặc máy ủ.</p> <p>17. Ly tâm 1 phút ở tốc độ 10.000 x g.</p> <p>18. Loại bỏ Cột Lọc. DNA tinh sạch có thể được sử dụng ngay lập tức hoặc lưu trữ ở -20°C.</p>

Quy trình tinh sạch DNA từ phản ứng enzyme

Chuyển toàn bộ thể tích của phản ứng enzyme đã thực hiện vào 1 ống ly tâm 1.5 mL, sau đó thêm 3 lần thể tích dung dịch Binding Buffer. Trộn đều bằng cách đảo ngược ống từ 7 – 10 lần.

Chuyển toàn bộ hỗn hợp phản ứng trên vào Cột Lọc được chứa trong Ống Thu 2 mL, ủ 3 phút. Sau đó ly tâm 1 phút ở tốc độ 10.000 x g.

Tiếp tục thực hiện quy trình tương tự tách chiết gel ở bước Rửa mẫu và Rửa giải (trang 6 và 7)

Vấn đề thường gặp và cách khắc phục

Nguyên nhân chính	Đề xuất giải pháp
1. Hiệu suất thu hồi DNA thấp	
Isopropanol không được thêm vào dung dịch ly giải	Thực hiện thí nghiệm đúng theo quy trình, thêm Isopropanol vào dung dịch Binding buffer sau bước ủ.

Không chuẩn bị Wash Buffer đúng cách	Đảm bảo ethanol đã được thêm vào trước khi sử dụng. Đánh dấu bên ngoài lọ dung dịch để tăng độ tin cậy.
Sử dụng ethanol không đúng nồng độ	Nên sử dụng ethanol tuyệt đối (96 – 100%) theo hướng dẫn sử dụng trang 5, không nên dùng ethanol thấp hơn 96% hoặc ethanol đã bị biến tính (chứa tạp chất như methanol hoặc methyl ethyl ketone).
Dung dịch rửa giải quá loãng	Cho quá nhiều dung dịch rửa giải Elution Buffer làm giảm hiệu suất thu hồi sản phẩm. Nên sử dụng thể tích 30 – 50 μ L.
Quy trình rửa giải không đảm bảo	Gia nhiệt Elution Buffer lên 56°C trước khi sử dụng. Ủ bước rửa giải theo đúng thời gian được hướng dẫn.