کیت استخراج DNA از خون و بافت

به روش رسوبی (CN: KPG-DNKtbs)

محتویات کیت:

- **بافر لیز DNK (CN: KPG-DNK)؛ ۲ ویال ۲۵ میلی لیتری**
- **بافر لیز DNC (CN: KPG-DNC)؛ ۲ ویال ۱۰ میلی لیتری**
- **بافر لیز بافت (CN: KPG-LBt)؛ ۱ ویال ۲۵ میلی لیتری**
- **بافر رسوب دهنده (CN: KPG-PS)؛ ۱ ویال ۳۰ میلی لیتری**
- **بافر شستشو (KPG-WBp)؛ ۲ ویال ۲۵ میلی لیتری**
- **آب مقطر DNase free (CN: KPG-DW)؛ ۱ ویال ۵ میلی لیتری**

دیگر موارد مورد نیاز:

سمپلر ۱۰۰۰ و ۱۰۰ میکرولیتری متغیر

نمونه: این کیت برای استخراج DNA از خون و بافت هموژنیزه طراحی شده است. با استفاده از این کیت می توانید از نمونه های سرم، پلاسما، محیط انتقالی ویروس Viral transport medium /VTM، کشت سلول و باکتری های گرم منفی DNA استخراج نمایید. برای این امر از حجم های زیر استفاده نمایید:

۱. خون/پلاسما/ محیط انتقالی ویروس: ۲۰۰ میکرولیتر

۲. محیط کشت سلول: به میزان ۱×۱۰^{۷} سلول

۳. ۳۰ تا ۵۰ میلی گرم بافت را در ۴۰۰ میکرولیتر بافر **لیز بافت** کاملا هموژنایز کنید و در نهایت ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه هموژنیزه شده را برای استخراج DNA استفاده کنید. دقت نمایید که بافر لیز برای DNA آسیب زا است بنابراین بیش از ۵ دقیقه نباید نمونه در بافر باقی بماند و بایستی فورا مرحله بعد آغاز شود.

مراحل استخراج DNA

- ۵۰۰ میکرولیتر از بافر لیز DNK به یک میکروتیوب DNase/RNase free اضافه نمایید.
- به میزان مناسب از نمونه (به طور مثال ۲۵۰ میکرولیتر از خون و یا ۲۰۰ محلول میکرولیتر از لیز حاصل از بافت) به میکروتیوب اضافه کرده و به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس نمائید و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کنید. هر ۵ دقیقه یکبار نمونه ها را ورتکس کنید.
- ۲۰۰ میکرولیتر از بافر لیز DNC به میکروتیوب اضافه کنید و ۵ ثانیه به شدت مخلوط کنید.
- میکروتیوب را در دور ۱۴۰۰۰-۱۲۰۰۰ برای ۵ دقیقه سانتریفیوژ کنید. مایع رویی را به یک میکروتیوب DNase/RNase free دیگر منتقل نمایید.
- ۳۰۰ میکرولیتر از بافر رسوب دهنده سرد به میکروتیوب جدید اضافه کرده و با دست به آرامی مخلوط نمایید.
- میکروتیوب را در دور ۱۴۰۰۰-۱۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کنید و مایع رویی را کاملا تخلیه نمایید
- به میزان ۵۰۰ میکرولیتر بافر شستشو به میکروتیوب اضافه کنید و با دست به آرامی مخلوط نمایید.
- میکروتیوب را در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کنید و مایع رویی را کاملا تخلیه نمایید و باقیمانده محلول شستشو موجود در میکروتیوب را با برعکس کردن بر روی دستمال کاغذی خشک نمایید.
- ۵۰ میکرولیتر آب مقطر DNase/RNase free اضافه نمایید و ۲ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. دقت کنید بهتر است دمای آب مقطر در حدود ۵۵ درجه سانتیگراد باشد تا جداسازی DNA بهتر انجام شود.

عیب یابی (Troublshooting):

کیت حاضر کنترل کیفی شده و احتمال برخورد با مشکل بسیار پایین می باشد. با این وجود در مواردی ممکن است با مشکلاتی مواجه شوید. برای حل این موارد به جدول زیر مراجعه کنید:

مشکل	علل احتمالی ایجاد مشکل	نحوه برطرف کردن مشکل
میزان استخراج کم	کم بودن تعداد سلول	استفاده از مقادیر بیشتر نمونه
	کیت تاریخ مصرف گذشته	در زمان ذکر شده کیت مصرف شود
	میکروتیوب های حاوی DNase	از میکروتیب های DNase/RNase free
	استفاده از مقادیر کم محلول های لیز	دقیقا طبق پروتوکول کیت استخراج انجام شود.
عدم انجام تست PCR	وجود مهار کننده ها	مرحله شستشو به خوبی انجام شود

احتیاط لازم برای کار با کیت و محتویات آن

- محلول لیز به کار رفته در این کیت ممکن است تحریک کننده سیستم اعصابی باشند. بنابراین در زمان کار با این محلول ها حتما از دستکش استفاده شود و در صورت تماس با پوست با آب فراون شستشو گردد. در زمان تماس با چشم، با مقادیر زیادآب شستشو گردد و درصورت عدم بهبودی به مراکز درمانی مراجعه گردد.

باقی مواد موجود در کیت ایمن و فاقد خاصیت آسیب زایی به بافت های انسان می باشند.

با ما در تماس باشید۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳

www.karmaniaparsgen.ir

DNA extraction kit from blood and tissue

By sedimentation method (CN: KPG-DNKtbs)
fifty tests

DNA extraction steps
Kit Contents:
• Lyse Buffer DNK (CN: KPG-DNK); 2 vials of 25 ml
• Lysis buffer DNC (CN: KPG-DNC); 2 vial of 10 ml
• Tissue lysis buffer (CN: KPG-LBt); 1 vial of 25 ml
• Precipitating buffer (CN: KPG-PS); 1 vial of 30 ml
• Washing buffer (KPG-WBp); 2 vials of 25 ml
• DNase free distilled water (CN: KPG-DW); 1 vial of 5 ml
Other required items:
Variable 1000 and 100 microliter sampler

Sample: This kit is designed to extract DNA from blood and tissue. Using this kit, you will be able to purify serum, plasma, VTM cell-free transfer medium, gram-negative bacteria and cell cultures, and DNA homogenized tissue samples in addition to blood. For this, use the following volumes:
1. Blood/plasma/VTM cell-free transfer medium: 200 µl
2. Cell culture medium: at the rate of 1×10^7 cells
3. Thoroughly homogenize 30 to 50 mg of tissue in a volume of 400 µl of tissue lysis buffer and finally use 200 µl of the homogenized sample for DNA extraction. Be careful that the lysis buffer is harmful to DNA, so the sample should not remain in the buffer for more than 5 minutes and the next step should be started immediately.

• Add 500 microliters of lysis buffer DNK to a DNase/RNase free microtube.

• Add the appropriate amount of the sample (for example, 250 microliters of blood or 200 microliters of tissue lysate solution) to the microtube and mix vigorously for 15 seconds on the vortex and incubate at room temperature for 10 minutes. do. Vortex the samples every 5 minutes.

• Add 200 µL of Lysis Buffer DNC to the microtube and mix vigorously for 5 seconds.

• Centrifuge the microtube at 12000-14000 RPM for 5 minutes and transfer the supernatant to another DNase/RNase free microtube.

• Add 300 microliters of cold precipitating buffer to the new microtube and mix gently by hand.

• Centrifuge the microtube at 12000-14000 RPM for 5 minutes and drain the supernatant completely.

• Add 500 microliters of washing buffer to the microtube and mix gently by hand.

• Centrifuge the microtube at 10000 RPM for 5 minutes and drain the supernatant completely and dry the remaining washing solution in the microtube by inverting it on a paper towel.

• Add 50 microliters of DNase/RNase free distilled water and incubate for 2 minutes at room temperature. Make sure that the temperature of the distilled water is around 55 degrees Celsius for better DNA separation.

Troubleshooting:
The present kit is highly quality controlled and the probability of encountering a problem is very low. However, in some cases, you may encounter problems using this kit. Refer to the following table to solve these issues:

Troubleshot	Reason	Solving
Low yeild	Low sample	Use more cell size
	Expired kit	Use the kit with valid ET
	Existence of DNase	Use DNase free microtubes and sampler tips
	Using low volume of lysis buffer	Purify according to the kit protocol
PCR false negative	Existense of inhibitors	Washing the column one more time

Necessary precautions for working with the kit and its contents
 The lysing solution in the kit has a very alkaline and acidic pH. On the other hand, the substances used in these solutions may in some cases be stimulating for the nervous system. Therefore, be sure to use gloves when working with these solutions and wash with large amounts of water in case of contact with the skin. In case of contact with eyes, wash with large amounts of water and if there is no improvement, refer to medical centers. The rest of the materials in the kit are safe and do not cause damage to human tissue

Contact us:
http://.karmaniaparsgene.ir
karmaniaparsgene@gmail.com
09132926113 +983434208024-5