کیت استخراج DNA از خون و بافت ۵۰ تستی

(CN: KPG-DNAbt)

توضیحی کوتاه درخصوص کیت استخراج DNA از خون و بافت

برای تخلیص DNA از خون نیاز به هموژنیز کردن نیست اما برای استفاده از بافت بایستی نمونه هموژنیز شود. بنابراین در زمان استفاده از خون نیازی به بافر هموژنیزه کننده و محلول لیز A نیست.

بافر رسوب دهنده را قبل از شروع کار در فریزر نگه دارید زیرا که در طول پروسه استخراج نیاز به محلول رسوب دهنده سرد است.

محتویات کیت:

محتوی	کاتالوگ نامبر	حجم
Lysis solution A	KPG-KLSA	20 mL
Lysis solution B	KPG-KLSH507.5	18 mL
Lysis solution C	KPG-KLSC	3 mL
Homogenizer Buffer	KPG-HBt	25 mL
Precipitation solution	KPG-PS	10 mL
Washing buffer	KPG-WBp	30 mL
DNase/RNase Free Water	KPG-DW	3 mL
High absorbance column tube	KPG-Column	50 pcs
Proteinase K	KPG-PK	1 ml
Collection Tube	KPG-CT	100 pcs

مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد	
انواع سمپلر	دستگاه سانتریفیوژ
سر سمپلر استریل	آب مقطر استریل دوبار تقطیر

مراحل آماده سازی نمونه: این کیت برای استخراج DNA از خون و بافت طراحی شده است. با استفاده از این کیت شما قادر خواهید بود علاوه بر خون، از نمونه های سرم، پلاسما، محیط انتقالی بدون سلولی VTM، کشت سلول و باکتری گرم منفی و بافت هموژنیزه شده DNA تخلیص نمایید. برای این امر از حجم های زیر استفاده نمایید:

۱. خون/پلاسما/ محیط انتقالی بدون سلولی VTM: ۱۵۰ میکرولیتر

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

۳. بافت هموژنیزه شده: ۳۰ تا ۵۰ میلی گرم بافت هموژنیزه شده در حجم ۴۰۰ میکرولیتر بافر هموژنیزه کننده (KPG-HBt) و در نهایت ۱۵۰ میکرولیتر از نمونه هموژنیزه شده را در تیوب جدید استریل اضافه کنید و با ۵۰۰ میکرولیتر از محلول لیز A مخلوط نمایید و بعد از ۵ دقیقه انکوباسیون مراحل استخراج را ادامه دهید. دقت نمایید انکوبه در این مرحله نباید بیش از ۵ دقیقه طول بکشد.

مراحل استخراج DNA

۱. ۳۵۰ میکرولیتر از بافر لیز B به یک میکروتیوب DNase/RNase free اضافه نمایید.

۲. به میزان مناسب از نمونه (به طور مثال ۱۵۰ میکرولیتر از خون، ۱۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون نیم مک فارلند باکتری گرم منفی و یا کل محلول لیز حاصل از بافت و یا باکتری لیز شده) به میکروتیوب اضافه کرده و به شدت به مدت ۱۵ ثانیه بر روی وورتکس مخلوط کنید و در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه انکوبه کنید. هر ۲ دقیقه یکبار نمونه ها را وورتکس کنید.

۳. ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز k به نمونه ها اضافه گردد ورتکس نمایید و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری با دمای ۵۵ درجه سانتیگراد قرار داده شوند.

۴. ۵۰ میکرولیتر از بافر لیز C (قبل از مصرف محلول را تکان دهید) به میکروتیوب اضافه کنید و به مدت ۵ ثانیه به شدت مخلوط کنید.

۵. ۲۰۰ میکرولیتر از بافر رسوب دهنده سرد به میکروتیوب اضافه کرده و با دست به آرامی مخلوط نمایید.

۶. ۷۵۰ میکرولیتر از محتویات میکروتیوب را به ستون های استخراج DNA اضافه کرده و در دور ۱۲/۰۰۰ RPM و به مدت ۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ کنید. دقت نمایید که طبق روش کیت مقادیر بسیار مناسبی از DNA جداسازی می شود و نباید حجم اضافی نمونه را به ستون اضافه کنید.

۷. ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل کرده و ۶۰۰ میکرولیتر بافر شستشو اضافه کنید و در دور ۸/۰۰۰ RPM و به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید.

۸. ستون را به میکروتیوب ۱/۵ استریل DNase free منتقل کرده و به میزان ۵۰ میکرولیتر ب DNase/RNase free water اضافه نمایید و به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. دقت کنید بهتر است دمای DNase/RNase free water در حدود ۵۵ درجه سانتیگراد باشد تا جداسازی DNA بهتر انجام شود.

۹. در ادامه ستون ها را در دور ۱۲/۰۰۰ RPM و به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ کنید. محلول به دست آمده حاوی DNA است.

برای افزایش میزان DNA استخراج شده پیشنهاد میکنیم نمونه DNA استخراج شده را مجددا بر روی ستون منتقل کنید و دوباره در دور ۱۲/۰۰۰ RPM و به مدت ۹۰ ثانیه سانتریفیوژ کنید.

ایمنی حین استفاده از کیت

محلول های مورد استفاده در کیت دارای خواص اکسیدانی و اسیدی می باشند. از تماس مستقیم با پوست و چشم به شدت اجتناب کنید. درصورت تماس با بافت های مورد اشاره با میزان فراوان آب شستشو دهید و به نزدیکترین محل درمانی مراجعه کنید.

آدرس کارخانه:

رفسنجان، کیلومتر ۲۰ جاده رفسنجان به کرمان، منطقه ویژه اقتصادی ناحیه غذا و دارو رفسنجان

۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳

۰۲۱۹۱۶۹۲۲۹۶

Karmaniaparsgene@gmail.com

ww.karmaniaparsgen.ir

سایر کیت های استخراج DNA و RNA تولیدی کارمانیا پارس ژن:

تمامی کیت های استخراج DNA زیر با هر سه روش ستونی، رسوبی و نانوذرات مگنت موجود می باشند:

۱. کیت استخراج DNA از خون و بافت به روش ستونی
۲. کیت استخراج DNA از باکتری گرم مثبت و منفی
۳. کیت استخراج DNA از مایکوباکتریوم
۴. کیت استخراج DNA از قارچ
۵. کیت استخراج DNA از ویروس
۶. کیت استخراج DNA از ویروس HPV
۷. کیت استخراج DNA از بافت گیاه

کیت های استخراج RNA:

تمامی کیت های استخراج RNA زیر با هر دو روش ستونی و رسوبی موجود می باشند:

۱. کیت استخراج RNA از خون و بافت
۲. کیت استخراج RNA از باکتری گرم مثبت و منفی
۳. کیت استخراج RNA از مایکوباکتریوم
۴. کیت استخراج RNA از قارچ
۵. کیت استخراج RNA از ویروس
۶. کیت استخراج RNA از بافت گیاه

یکی از کاراترین کیت های تخلیص: **کیت تخلیص پلاسمید**

DNA Extraction Kit from Blood and Tissue (CN: KPG-DNAbt)

A brief explanation of the DNA extraction kit from the blood and tissues:

To extraction of DNA from blood, use directly the sample. In the cases of tissue, you need to homogenize the tissue and, hence, in the cases of tissue you do not need solution A and Homogenizer buffer.

Store Percipitation buffer in freezer before starting, brcause you need cold precipitation during process.

Kit component

Item	Catalogue number	volume
Lysis solution A	KPG-KLSA	**25 mL**
Lysis solution B	KPG-KLSB507.5	**18 mL**
Lysis solution C	KPG-KLSC	**3 mL**
Homogenizer Buffer	KPG-HBt	**25 mL**
Precipitation solution	KPG-PS	**10 mL**
Washing buffer	KPG-WBp	**30 mL**
Proteinase K	KPG-PK	**1 mL**
DNase/RNase free water	KPG-DW	**3 mL**
High absorbance column tube	KPG-Column	**50 pcs**
Collection Tube	KPG-CT	**100 pcs**

Material needs	
Distilled Water	Sampler tips
Centrifuge	Samplers

Sample: This kit is designed to extract DNA from blood and tissue. Using this kit, you will be able to purify DNA from serum, plasma, VTM cell-free transfer medium, gram-negative bacteria and cell cultures, and homogenized tissue samples in addition to blood. For this, use the following volumes:

1. Blood/plasma/VTM cell-free transfer medium: 150 µl
2. Cell culture medium: at the rate of 1×10^7 cells
3. Homogenized tissue: add 30 to 50 mg of homogenized tissue in a volume of 400 microliters of homogenizing buffer (CN: KPG-HBt) and finally add 150 microliters of the homogenized sample in a new sterile tube and mix with 500 microliters of lysis solution A and after incubate for 5 minutes, continue the extraction steps. Pay attention that incubation should not last more than 5 minutes at this stage.

Protocol:

•Add 350 microliters of Lysis Buffer B to a DNase/RNase free microtube.

•Add an appropriate amount of the sample (for example, 150 microliters of blood, 150 microliters of 0.5 McFarland Gram-negative bacteria suspension, or the entire lysate solution obtained from the tissue or lysed bacteria) to the microtube and shake vigorously for 15 seconds. Mix on a vortex and incubate at room temperature for 5 minutes. Vortex the samples every 2 minutes.

•Add 20 µL of Proteinase K , mix on vortex and incubate at 55 °C on Water Bath for 15 minutes.

•Add 50 µL of Lysis Buffer C and mix vigorously for 5 seconds.

•Add 200 microliters of cold precipitating buffer to the microtube and mix gently by hand.

•Add 750 µL of the contents of the microtube to the DNA extraction columns and centrifuge at 12.000 RPM for 1 minute and 30 secpnds . Make sure that according to the kit method, very good amounts of DNA are purified and you should not add extra sample volume to the column.

•Transfer the column to a new collection tube and add 600 µL of wash buffer and centrifuge at 8.000 RPM for 1 minute.

•Transfer the column to a sterile DNase free 1/5 microtube and add 50 microliters of DNase/RNase free water and incubate for 1 minutes at room temperature. Make sure that the temperature of the distilled water is around 55°C for better DNA purification.

Next, centrifuge the columns at 12/000 RPM for 2 minute. The resulting solution contains DNA. To increase the amount of extracted DNA, we suggest transferring the extracted DNA sample to the column and centrifuging again at 12.000 RPM for 1 minute.

Safety while using the kit

The solutions used in the kit have oxidizing and acidic properties. Avoid direct contact with skin and eyes. In case of contact with the mentioned tissues, wash with plenty of water and go to the nearest medical center.

Manufacture Address

Refsanjan, 20 km from Rafsanjan road to Kerman, Rafsanjan special economic zone, food and drug area
09132926113
09135025983
Karmaniaparsgene@gmail.com
www.karmaniaparsgen.ir

Other DNA extraction kits and RNA produced by Karmania Pars Gene:
All the following DNA extraction kits are available in all three column, sedimentary and magnet nanoparticles:

1. DNA extraction kits from blood and tissue by column
2. DNA extraction kits from gram-positive and negative bacteria
3. DNA extraction kit from mycobacterium
4. DNA extraction kit from Fungi
5. DNA extraction kit from virus
6. DNA extraction kit from HPV virus
7. DNA extraction kits from plant tissue

RNA extraction kits:
All the following RNA extraction kits are available in both column and sedimentary methods:

1. RNA extraction kits from blood and tissue
2. RNA extraction kits from gram-positive and negative bacteria
3. RNA extraction kit from mycobacterium
4. RNA extraction kit from Fungi
5. The RNA extraction kit from the virus
6. RNA extraction kits from plant tissue

One of the most efficiently discharged kits: **Plasmid extraction Kit**