

کیت استخراج DNA از باکتری گرم مثبت و منفی به روش ستونی

۵۰ تستی
(CN: KPG-GPB)

کیت استخراج DNA از باکتری های گرم مثبت و منفی

ابتدا شیرابه باکتریایی حاوی 10^8 CFU/mL آماده می گردد. پس طی مراحل لیز از ستون سیلیکا عبور داده می شود. DNA به ستون سیلیکا متصل می گردد و پس از شستشو در آب مقطر استریل DNase/RNase free جدا و در 20°C ذخیره می شود.

محتویات کیت

محتوی	کاتالوگ نامبر	حجم
Lysozyme	KPG-L	1 mL
TE Buffer	KPG-TE	5 mL
Carrier	KPG-Cr	1 mL
Lysis solution A	KPG-KSA	20 mL
Lysis solution B	KPG-KSB	5 mL
Precipitation	KPG-PS	15 mL
Washing buffer	KPG-WB	25 mL
DNase free water	KPG-DW	5 mL
High absorbance column tube	KPG-Column	50 pcs
Collection Tube	KPG-CT	100 pcs

مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد	
انواع سمپلر	دستگاه سانتریفیوژ
سر سمپلر استریل، میکروتیوب CC 1/5	آب مقطر استریل دوبار تقطیر

مراحل آماده سازی نمونه

این کیت برای استخراج DNA از باکتری های گرم مثبت و منفی طراحی شده است. برای استخراج DNA ، چندین کلنی از باکتری (حدود 10^9 CFU/mL) در آب مقطر استریل مخلوط کرده و در دور rpm/min ۷۰۰۰ به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ کنید. مایع رویی را دور ریخته و رسوب را در $100\ \mu\text{L}$ بافر TE کاملاً تعلیق نمایید و $20\ \mu\text{L}$ لیزوزیم اضافه کنید. سپس به مدت حداقل ۳۰ دقیقه در دمای 37°C درجه سانتیگراد انکوبه کنید و استخراج ماده ژنومی را طی مراحل زیر انجام دهید.

نکته: افزایش مدت انکوباسیون پس افزودن لیزوزیم به بیش از ۳۰ دقیقه در مورد باکتری های گرم مثبت سبب آسیب بیشتر به دیواره سلولی و لیز راحت تر و در نهایت افزایش محصول DNA می گردد.

نحوه کار با کیت استخراج DNA

- ۴۰۰ میکرولیتر Lysis solution A را به میکروتیوب مرحله قبل اضافه کنید و آن را با سرعت بالا به مدت ۵ ثانیه ورتکس کنید و به مدت ۶ دقیقه انکوبه کنید.
- ۱۰۰ میکرولیتر Lysis solution B را به میکروتیوب اضافه کنید و آن را با سرعت بالا به مدت ۵ ثانیه ورتکس کنید و ۳ دقیقه انکوبه کنید
- ۱۰ میکرولیتر Carrier (KPG-CR) اضافه کنید و به مدت ۵ ثانیه ورتکس کنید.
- ۳۰۰ میکرولیتر Precipitation solution (KPG-PS) اضافه کنید و به ۵ ثانیه ورتکس کنید.
- کل لیزات را با ستون تخلیص DNA (KPG-Column) منتقل کنید و با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
- ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل کنید و ۵۰۰ میکرولیتر از بافر شستشو (KPG-WB) به ستون اضافه کنید و با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید
- محتویات کالکشن تیوب را تخلیه و ستون را مجدد در داخل همان کالکشن تیوب قرار دهید و اینبار بدون اضافه کردن هیچ محلولی، در دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
- ستون را به تیوب CC ۱/۵ استریل منتقل کنید و به میزان ۵۰ میکرولیتر آب مقطر DNase/RNase free اضافه نمایید و به مدت ۴ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. بهتر است آب مقطر از قبل به دمای 65°C درجه سانتیگراد رسیده باشد.
- ستون را در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱ دقیق سانتریفیوژ کنید. محلول عبور کرده از ستون حاوی DNA می باشد.
- DNA استخراج شده برای استفاده بعدی در 20°C درجه سانتی گراد ذخیره نمایید.

نکته: برای بررسی صحت و میزان DNA تخلیصی حتماً با استفاده از نانودراپ و در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر میزان DNA تخلیصی را بررسی بفرمایید و همچنین الکتروفورز کردن ۵ میکرولیتر از DNA از صحت آن اطمینان حاصل 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. در صورت تماس با بافت های مورد اشاره با میزان فراوان آب شستشو دهید و به نزدیکترین محل درمانی مراجعه کنید.

آدرس شرکت

رفسنجان، کیلومتر ۲۰ جاده رفسنجان به کرمان، منطقه ویژه اقتصادی،

ناحیه غذا و دارو

۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳

۰۹۱۳۵۰۲۵۹۸۳

Karmaniaparsgene@gmail.com

www.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 پلاسמיד



Column based DNA extraction kit from Gram positive and negative (CN: KPG-DNA-GPB)

A brief explanation of the DNA extraction kit from the Gram positive and negative:

To extraction of DNA from Gram positive and negative bacteria use enough bacteria (1.5 McFarland), then lyse the bacteria and pass from DNA extraction column. DNA will be separated from the filter using DNase/RNase free water.

Kit component

Item	Catalogue number	volume
Lysozyme	KPG-L	1 mL
TE Buffer	KPG- KPS	5 mL
Lysis solution A	KPG-KSA	20 mL
Lysis solution B	KPG-KSB	5 mL
Precipitation solution	KPG-PS	15 mL
Washing buffer	KPG-WB	25 mL
DNase free water	KPG-DW	5 mL
High absorbance column tube	KPG-Column	50 pcs
Collection Tube	KPG-CT	100 pcs

Material needs

Distilled Water	Sampler tips
Centrifuge	Samplers

Sample Preparation Steps: This kit was designed to extract DNA from Gram-positive/negative bacteria. For extracting DNA, inoculate several colonies of the bacteria in distilled water to approach to 109 CFU/mL. Centrifuge at 7000 rpm for 3 min and discard the supernatant. Suspend and wash the bacterial pellet with 500 μ L distilled water and centrifuge at 7000 rpm/ 3 min. Resuspend the bacterial pellet in 100 μ L TE buffer and add 20 μ L Lysozyme. vortex at high speed and incubate at 37 °C for 70 min to Lysozyme break the cell wall of bacteria.

How to work with the kit to extract DNA:

1. Add 400 microliter Lysis Solution A to the previous step microtube and vortex it for 10 seconds and incubate for 6 minutes.
2. Add 100 microliter Lysis Solution B to the tube and vortex it for 10 seconds and incubate for 3 minutes.
3. Add 10 μ L of Carrier (KPG-CR) and vortex for 5 seconds.
5. Add 300 microliter Precipitation Solution (KPG-PP) and vortex for 5 seconds.
6. Transfer the entire the tube to the DNA extraction column (KPG-Column) and centrifuge at 8000 rpm for 1 minute.
7. Transfer the column to the new collection tube and add 500 μ m from the washing buffer (KPG-WB) to the column and centrifuge at 8000 rpm for 1 minute.
8. Discharge the contents of the collection tube and re -insert the column inside the collection tube and centrifuge at 12,000 rpm for 1 minute without adding any solution.
9. Transfer the column to the new collection tube and add 50 μ L of distilled water and incubate for 4 minutes at room temperature. It is advisable to pre-warm distilled water to 65 ° C.
10. Centrifuge the column at 12000 for 1 minute. The solution passed through the column contains DNA.

Note: To check the accuracy and amount of DNA drainage, be sure to check the DNA OD at 260 and 280 nm wavelengths, and ensure that it is accurate by electrophoresis.

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.

Factory Address

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

Other DNA extraction kits and RNA produced by Karmania Pars Gen:

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**