

کیت استخراج DNA از باکتری گرم مثبت و منفی به روش نانوذرات مگنت

۵۰ تستی

(CN: KPG-MGPN)

کیت استخراج DNA از باکتری های گرم مثبت و منفی

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

محتویات کیت:

- لیزوزیم (KPG-L): ۱ میلی لیتر
- بافر (KPG-TE): ۵ میلی لیتر
- بافر لیز A (KPG-KSA): ۲۰ میلی لیتر
- بافر لیز B (CN: KPG-KLSB20): ۵ میلی لیتر
- بافر لیز C (CN: KPG-KLSC): ۵ میلی لیتر
- نانوذرات مگنت (KPG-Mabead): ۱ و ۲ میلی لیتری
- بافر شستشو (KPG-WBp): ۲ و ۲۵ میلی لیتری
- Proteinase K (KPG-Pk): ۱ و ۱ میلی لیتری (دمای نگهداری 20°C -)
- Carrier (KPG-Cr): ۱ و ۱۰۰۰ میکرولیتری (دمای نگهداری 20°C -)
- آب مقطر DNase free (CN: KPG-DW): ۱ و ۱۰ میلی لیتری
- میکروتیوب ۲ سی سی; ۱۰۰ عدد

مواد مورد نیاز که در کیت وجود ندارد	
انواع سمپلر	دستگاه سانتریفیوژ
سر سمپلر استریل، میکروتیوب CC ۱/۵	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 تخلیق نمایید و $20\ \mu\text{L}$ لیزوزیم اضافه کنید. سپس به مدت حداقل ۳۰ دقیقه در دمای 37°C درجه سانتریگراد 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

۱. $400\ \mu\text{L}$ 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.
۲. $100\ \mu\text{L}$ 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
۳. $10\ \mu\text{L}$ میکرولیتر Carrier (KPG-CR) اضافه کنید و به مدت ۵ ثانیه ورتکس کنید.
۴. $200\ \mu\text{L}$ میکرولیتر نانوذرات مگنت اضافه کنید و به ۵ ثانیه ورتکس کنید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.
۵. میکروتیوب را در رک دارای آهن ربا گذاشته و به مدت ۳۰ ثانیه انکوبه کنید. ذرات مگنت متصل به DNA به طرف آهن ربا موجود در رک منتقل می شوند. بنابراین با استفاده از سمپلر مایع موجود در رک را به گونه ای که با ذرات مگنت برخورد نداشته باشد از داخل میکروتیوب تخلیه کنید. دقت نمایید با بالا و پایین کردن میکروتیوب در داخل رک، مایع باقی مانده در داخل نانوذرات را جدا کنید تا در انتهای میکروتیوب جمع شده و با سمپلر جدا کرده و دور بریزید.
- میکروتیوب ها را از رک دارای آهن ربا خارج کرده و به میزان $500\ \mu\text{L}$ میکرولیتر بافر شستشو به میکروتیوب ها اضافه نمایید و کاملاً مخلوط کنید.
- میکروتیوب را در رک دارای آهن ربا گذاشته با استفاده از سمپلر مایع موجود در رک را به گونه ای که با ذرات مگنت برخورد نداشته باشد از داخل میکروتیوب تخلیه کنید.
- $100\ \mu\text{L}$ میکرولیتر آب مقطر DNase/RNase free اضافه کرده، ورتکس و به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. دقت کنید بهتر است دمای آب مقطر در حدود 55°C درجه سانتریگراد باشد تا جداسازی DNA بهتر انجام شود.
- میکروتیوب را در رک دارای آهن ربا گذاشته و به مدت ۳۰ ثانیه انکوبه کنید. مایع موجود در میکروتیوب حاوی DNA خالص می باشد. بنابراین با استفاده از سمپلر مایع موجود را به گونه ای که با ذرات مگنت برخورد نداشته باشد از میکروتیوب خارج و به میکروتیوب استریل و DNase/RNase free منتقل کرده و در دمای 20°C - ذخیره کنید.

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 با 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