



کیت استخراج DNA از مدفوع

به روش رسوبی (CN: KPG-SDNKSTT) ۵۰ تستی

محتویات کیت:

- بافر پره لیز B (CN: KPG-KLSH507.5); ۱ ویال ۲۵ میلی لیتری
- بافر لیز A (CN: KPG-KLSA); ۱ ویال ۲۵ میلی لیتری
- بافر لیز B (CN: KPG-KLSB); ۱ ویال ۱۰ میلی لیتری
- بافر رسوب دهنده (CN: KPG-PS); ۱ ویال ۱۵ میلی لیتری
- بافر شستشو (KPG-WBp); ۱ ویال ۲۵ میلی لیتری
- آب مقطر DNase free (CN: KPG-DW); ۱ ویال ۵ میلی لیتری
- میکروتیوب ۲ سی سی سی (KPG-MICR2); ۵۰ عدد

دیگر موارد مورد نیاز:

سمپلر ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتری متغیر

نمونه: این کیت برای استخراج DNA از مدفوع طراحی شده است. با استفاده از این کیت شما قادر خواهید بود علاوه بر مدفوع، از بزاق، خون، 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. مدفوع: ۰/۲ گرم
۲. بزاق: ۳۵۰ تا ۵۵۰ میکرولیتر
۳. خون/پلاسما/ محیط انتقالی بدون سلولی VTM: ۲۰۰ میکرولیتر
۴. محیط کشت سلول: به میزان 1×10^6 سلول
۵. بافت: ۳۰ تا ۵۰ میلی گرم بافت در حجم ۴۰۰ میکرولیتر بافر پره لیز کاملاً هموژنایز کنید و در نهایت ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه هموژنیزه شده را برای استخراج DNA استفاده کنید.

مراحل استخراج DNA

- ۰/۲ گرم مدفوع هموژنیزه شده را به یک میکروتیوب ۲ میلی لیتر انتقال دهید و ۵۰۰ میکرولیتر از بافر پره لیز (KPG-KLSH507.5) به میکروتیوب اضافه نمایید و ۱۰ ثانیه به شدت ورتکس نمایید و ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد انکوبه نمایید (در طی این ده دقیقه ۲ تا سه بار به مدت ۳ ثانیه ورتکس نمایید).
- میکروتیوب مرحله قبل را در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ نمایید و سوپرناتانت را به یک میکروتیوب ۲ میلی لیتر جدید منتقل نمایید و میکروتیوب که حاوی بقایای مدفوع را دور بیندازید. نکته: ممکن است مخاط در سطح سوپرناتانت جمع شده باشد از انتقال آن به تیوب جدید خودداری نمایید.
- به میزان ۵۰۰ میکرولیتر از بافر لیز A به میکروتیوب حاوی نمونه اضافه کرده و به شدت به مدت ۱۵ ثانیه بر روی وورتکس مخلوط کنید و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کنید. هر ۵ دقیقه یکبار نمونه ها را وورتکس کنید.
- به میزان ۲۰۰ میکرولیتر از بافر لیز B به میکروتیوب اضافه کنید و به مدت ۵ ثانیه به شدت مخلوط کنید.
- میکروتیوب را در دور RPM ۱۲۰۰۰-۱۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ کنید و مایع رویی را به یک میکروتیوب ۲ میلی لیتر دیگر منتقل نمایید.
- به میزان ۳۰۰ میکرولیتر از بافر رسوب دهنده سرد به میکروتیوب جدید اضافه کرده و کاملاً مخلوط نمایید و سپس در دور RPM ۱۴۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه و یا در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
- مایع داخل میکروتیوب را کاملاً تخلیه کرده (با واژگون کردن میکروتیوب) و سپس ۵۰۰ میکرولیتر بافر شستشو اضافه کنید و در دور RPM ۸۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
- مایع داخل میکروتیوب را کاملاً تخلیه کرده (با واژگون کردن میکروتیوب) و سپس همانگونه که واژگون است باقیمانده بافر شستشو در داخل میکروتیوب را با گذاشتن بر روی دستمال کاغذی، تخلیه کنید.
- به میزان ۵۰ میکرولیتر آب مقطر DNase free اضافه کنید و با وورتکس کردن کاملاً مخلوط کنید. دقت کنید بهتر است دمای آب مقطر در حدود ۵۵ درجه سانتیگراد باشد تا جداسازی DNA بهتر انجام شود.
- DNA جدا شده از ستون را می توان در ۲۰- درجه سانتیگراد و به مدت بیش از شش ماه نگه داری کرد.

عیب یابی (Troubleshooting):

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

مشکل	علل ایجاد مشکل	نحوه برطرف کردن مشکل
میزان استخراج کم	عدم تعداد مناسب سلول	استفاده از مقادیر بیشتر نمونه
	کیت تاریخ مصرف گذشته	در زمان ذکر شده کیت مصرف شود
	میکروتیوب های حاوی DNase	از میکروتیوب های DNase/RNase free
	استفاده از مقادیر کم محلول های لیز	دقیقاً 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 A و B موجود در کیت دارای Ph بازی و اسیدی شدید می باشند. از طرفی مواد به کار رفته در این محلول ها در برخی موارد ممکن است برای سیستم اعصاب محرک باشند. بنابراین در زمان کار با این محلول ها حتماً از دستکش استفاده شود و در صورت تماس با پوست با مقادیر زیاد آب شستشو گردد. در زمان تماس با چشم، با مقادیر زیاد آب شستشو گردد و در صورت عدم بهبودی به مراکز درمانی مراجعه گردد.

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

با ما در تماس باشید

۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳ www.karmaniaparsgen.ir

karmaniaparsgene@gmail.com