



Z-Competent™ E. coli Transformation Kit CN. KPG-ZCET

معرفی کیت آماده سازی سلول های مستعد (Competent Cell Preparation Kit)

کیت آماده سازی سلول های مستعد باکتریایی یک محصول تخصصی برای تبدیل سلول های باکتریایی (مانند E. coli) به سلول های مستعد برای پذیرش پلاسمید یا DNA خارجی است. این کیت با استفاده از روش شیمیایی (کلرید کلسیم)، سلول ها را در حالت Competent قرار می دهد که قادر به جذب DNA نوترکیب از محیط اطراف خود هستند. این محصول برای ۵ واکنش طراحی شده و برای کلونینگ ژن، ترانسفورماسیون، و تحقیقات مهندسی ژنتیک کاربرد دارد. سلول های مستعد پس از آماده سازی، برای ترانسفورماسیون با پلاسمیدها، محصولات PCR، یا کتابخانه های ژنی استفاده می شوند. این محصول شامل تمامی معرف های لازم برای آماده سازی سلول های مستعد و ترانسفورماسیون می باشد.

محتویات کیت:

۱. بافر آماده سازی A (Competent Reagent A) (KPG-MC100): 10 سی سی
 ۲. بافر آماده سازی B (Competent Reagent B) (KPG-CC100): 15 سی سی
 ۳. سوبسترا (Substrate) (KPG-DPSUBDP) 2 ویال
 ۴. پروتیناز K (Proteinase K) (KPG-PK): 1 سی سی
 ۵. استاندارد (DPPH Standard) (KPG-DPPHSTD)
 ۶. پلیت الایزا
- موارد مورد نیاز که در کیت موجود نیست: 1. سمپلر و سر سمپلر استریل، 2. میکروتیوب 2 سی سی استریل

آماده سازی محلول ها:

➤ محلول ها آماده به کار هستند و نیاز به آماده سازی نیست. بهتر است محلول ها در دمای یخچال نگه داری شوند ولی در زمان کار به دمای محیط برسند. با این وجود این محلول ها در دمای محیط تا 3 ماه و در دمای یخچال تا یکسال پایدار می باشند.

ویژگی های کلیدی محصول:

- تعداد واکنش: ۵ واکنش مجزا (۵ میکروتیوب)
- نوع روش: شیمیایی (کلرید کلسیم)
- سویه مناسب E. coli: تمامی سویه های ای کولای
- کارایی ترانسفورماسیون: معمولاً 10^8 - 10^6 CFU/μg پلاسمید (بسته به نوع سویه)

مراحل آماده سازی سلول های مستعد با روش شیمیایی:

۱. کشت سلول ها: یک کلنی تازه از باکتری را در محیط کشت مایع (مثلاً LB) تلقیح کرده و در طول موج 600nm تا حدود 0.6-0.8 کشت دهید. دقت نمایید در صورتیکه طول موج 600 نانومتر را در اختیار ندارید، در طوا موج 630 نانومتر بایستی باکتری با OD تا حدود 0.4-0.5 رشد کند.
۲. سانتریفیوژ: سلول ها را با سرعت ۴۰۰۰-۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ کنید و محیط کشت رویی را کاملاً تخلیه کرده به گونه ای که هیچگونه محیط کشتی باقی نماند.
۳. شستشو: ۱. پلت سلولی را در 1/5 میلی لیتر بافر آماده سازی A سرد (محلول موجود در کیت) حل کرده و به خوبی مخلوط کنید و در ادامه به مدت نیم ساعت بر روی یخ انکوبه کنید و مجدداً با شرایط قبلی سانتریفیوژ کنید و مایع رویی را کاملاً تخلیه کرده به گونه ای که هیچگونه بافری باقی نماند.
۴. شستشو: ۲. پلت سلولی را در 1/5 میلی لیتر بافر آماده سازی B سرد (محلول موجود در کیت) حل کرده و به خوبی مخلوط کنید و بدون انکوباسیون، با شرایط قبلی سانتریفیوژ کنید و مایع رویی را کاملاً تخلیه کرده به گونه ای که هیچگونه بافری باقی نماند.
۳. آماده سازی باکتری Competent شده: پلت سلولی را در 0/5 میلی لیتر بافر آماده سازی B سرد (محلول موجود در کیت) حل کرده و به خوبی مخلوط کنید و در ادامه در ویال های 0/2 میلی لیتری استریل به میزان 50 میکرولیتر تقسیم بندی کنید. دقت داشته باشید چون حجم باکتری به حجم بافر آماده سازی اضافه شده، بنابراین باکتری آماده شده در 11 ویال پنجاه میکرولیتری تقسیم بندی می شود. هر ویال را برای انتقال یک پلاسمید استفاده کنید.

مراحل انتقال پلاسمید به باکتری:

۱. مرحله اول: اگر پلاسمید شما به صورت کانسترت آماده و تجاری خریداری شده، به میزان 10 نانوگرم و اگر از باکتری تخلیص کرده اید، به میزان 1 نانوگرم به هر یک از ویال های باکتری کامیتنت شده در مرحله قبل اضافه نمایید. دقت نمایید این اعداد بسته به نوع پلاسمید و اندازه قطعه مورد نظر ممکن است نیاز به تغییر داشته باشد. بعد از یک بار انتقال، اگر تعداد کلنی ها زیاد و قابل جداسازی از یکدیگر نباشد، مقادیر را باید کمتر و اگر تعداد کلنی ها کم و در حد سه تا ده کلنی باشد، مقادیر را افزایش دهید.
۲. مرحله دوم: میکروتیوب را بر روی یخ به مدت 30 دقیقه انکوبه کنید.
۳. مرحله سوم: میکروتیوب را در دمای 42 درجه سانتیگراد به مدت 90 ثانیه انکوبه کنید. دقت نمایید اگر فرایند انتقال کمتر از میزان مورد نظر باشد، زمان انکوباسیون را تا 120 ثانیه افزایش دهید.
۴. مرحله چهارم: میکروتیوب را بلافاصله بر روی یخ منتقل کرده و به مدت 10 دقیقه انکوبه کنید.
۵. مرحله پنجم: به میزان 50 میکرولیتر محیط کشت LB مایع استریل به میکروتیوب اضافه کرده و به مدت یک ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
۶. مرحله ششم: به میزان 30 میکرولیتر از باکتری را بر روی محیط کشت LB آگار حاوی آنتی بیوتیک مناسب (جدول زیر را ملاحظه فرمایید) کشت دهید.

آنتی بیوتیک	غلظت نهایی در محیط LB آگار
آمپی سیلین (Ampicillin)	۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر
کانامایسین (Kanamycin)	۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر
کلرامفنیکل (Chloramphenicol)	۲۵ تا ۳۴ میکروگرم بر میلی لیتر
کاربنی سیلین (Carbenicillin)	۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر

مقادیر آنتی بیوتیک بر حسب نوع و کتور و باکتری متفاوت است که بایستی توسط کاربر محاسبه شود.

دستورالعمل های ایمنی: محلول های مورد استفاده در این کیت برای بافت انسان خطرناک هستند، از این رو، در موارد تماس با پوست، چشم و غیره، با آب شسته و برای درمان اضافی به بیمارستان مراجعه کنید.

کیت های مشابه در حیطه تولید پروتئین های نوترکیب تولیدی کارمانیا

پارس ژن:

۱. باکتری های کامیتنت شده آماده به کار BL21, TOP-10, ...
 ۲. Ladder protein
 ۳. بافرهای مناسب برای الکتروفورز عمودی اعم از Running buffer, Sample buffer, ...
 ۴. کیت SDS-PAGE حاوی تمام موارد برای ران کردن 10 ژل
- کارمانیا پارس ژن تولید کننده کیت های:

۱. الایزا برای اندازه گیری سایتوکین ها
۲. استخراج DNA و RNA به روش های ستونی، رسوبی و نانوذرات
- مگنت
۳. کیت های اندازه گیری miRNA
۴. کیت های بررسی اکسیدان و آنتی اکسیدان ها
۵. محصولات مرتبط با کشت سلول مانند FBS، محیط کشت و سلول های سرطانی و بنیادی مزانشیما
۶. میکروتیوب ها دستگاه های Real-Time PCR
۷. ستون های تخلیص DNA و RNA

در صورت داشتن سول فنی با ما در تماس باشید

09132926113

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR

karmaniaparsgene@gmail.com