



کیت استخراج DNA از بافت پارافینه

(CN: KPG-DNAFFP)

توضیحی کوتاه درخصوص کیت استخراج DNA از بافت پارافینه

این کیت قادر به تخلیص DNA از بافت پارافینه است که بایستی نمونه حتما قبل از تخلیص دیپارافینه شود. دیپارافینه نمودن بافت و آب دهی مناسب آن در میزان استخراج DNA اهمیت بسزایی دارد. در این کیت دو روش دیپارافینه کردن بافت ارائه شده است که روش اول بازدهی بهتری دارد (بسته به علاقه پژوهشگر می توان از هر یک از آنها برای استخراج استفاده نمود، اگر چه توصیه شرکت کارمانیا پارس ژن استفاده از روش اول می باشد). برای استفاده از این کیت ، مقاطع بافتی با ضخامت ۱-۲ میکرومتر تهیه گردد و پارافین های اضافی جداسازی شود. میزان DNA استخراج شده بستگی به تعداد مقطع های بافتی، نوع بافت و زمان پارافینه بودن بافت و عوامل دیگر دارد.

محتویات کیت:

محتوی	کاتالوگ نامبر	حجم
Xylene	KPG-X	1 Vial 50 mL
Proteinase	KPG-PK	1 Vial 1 mL
TE buffer	KPG-TE	1 Vial 60 mL
Lysis solution B	KPG-KLSB107	1 Vial 20 mL
Binding buffer	KPG-B	1 Vial 5 mL
Precipitation solution	KPG-PS	1 Vial 15 mL
Carrier	KPG-Cr	1 Vial 500 µL
Washing buffer	KPG-WB	1 Vial 25 mL
DNase/RNase free water	KPG-DW	5 mL
High absorbance column tube	KPG-Column	50 pcs
Collection Tube	KPG-CT	100 pcs

روش اول برای دیپارافینه کرده بافت:

- ۱-۱۰ برش بافتی را درون میکروتیوب ۲ میلی لیتر قرار دهید و ۱ میلی لیتر گزین اضافه و به مدت ۵ ثانیه ورتکس و سپس به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.
- ۲- میکروتیوب را در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید و سپس گزین را به طوریکه بافت ها خارج نگردند دور بریزید. مراحل ۲ و ۳ را تکرار نمایید.
- ۳- ۱ میلی لیتر اتانول ۱۰۰ درصد به تیوب اضافه و ۵ ثانیه ورتکس کنید و در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ نمایید. در ادامه اتانول را تخلیه کنید.
- ۴- ۱ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد به تیوب اضافه و ۵ ثانیه ورتکس کنید، یک دقیقه در دمای اتاق انکوبه و سپس در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ نمایید و در ادامه اتانول را تخلیه نمایید.
- ۵- ۱ میلی لیتر اتانول ۵۰ درصد به تیوب اضافه و ۵ ثانیه ورتکس کنید، یک دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید و سپس در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ نمایید و در ادامه اتانول را تخلیه کنید.
- ۶- ۱ میلی لیتر آب مقطر استریل به تیوب اضافه و ۵ ثانیه ورتکس کنید، یک دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردد و سپس در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ نمایید و در ادامه آب مقطر را تخلیه نمایید.
- ۷- ۱ میلی لیتر TE بافر به تیوب اضافه و ۵ ثانیه ورتکس کنید یک دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید و سپس در دور ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ و در ادامه TE بافر را تخلیه نمایید.
- ۸- ۱۰۰ میکرولیتر بافر TE به نمونه اضافه نمایید و ورتکس کنید و استخراج DNA را طبق مراحل که در ادامه ذکر می شود، انجام دهید.

روش دوم

- ۱-۵ برش بافتی را درون میکروتیوب ۲ میلی لیتر قرار دهید و ۱ میلی لیتر گزین به تیوب اضافه و به مدت ۵ ثانیه ورتکس نمایید و سپس به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید.
- ۲- میکروتیوب را در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید و گزین را دور بریزید.
- ۳- مجدداً ۱ میلی لیتر گزین اضافه کنید و به مدت ۵ ثانیه ورتکس و در ادامه به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید.
- ۴- میکروتیوب را در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید و گزین را دور بریزید.
- ۵- ۱ میلی لیتر اتانول ۱۰۰ درصد به تیوب اضافه کنید به مدت ۵ ثانیه ورتکس کنید و در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ نمایید.
- ۶- اتانول را کاملاً (با سمپلر) خارج نمایید و میکروتیوب را در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار دهید تا تمام اتانول تبخیر گردد.
- ۷- ۱۰۰ میکرولیتر بافر TE به نمونه اضافه نمایید و ورتکس کنید و استخراج DNA را طبق مراحل زیر انجام دهید.

مراحل استخراج DNA

- ۱- ۲۰ میکرو لیتر پروتئیناز K به تیوب اضافه نمایید و در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد حداقل به مدت یک ساعت انکوبه گردد.
- ۲- ۴۰۰ میکرولیتر بافر لیز به میکروتیوب اضافه و ۵ ثانیه ورتکس نمایید.
- ۳- ۱۰۰ میکرولیتر بافر Binding به میکروتیوب اضافه و ۵ ثانیه ورتکس نمایید.
- ۴- ۱۰ میکرولیتر از حامل (Carrier (CN: KPG-Cr) به میکروتیوب اضافه و ۵ ثانیه به شدت مخلوط کنید*.
- ۵- ۳۰۰ میکرولیتر از بافر رسوب دهنده (Precipitation) به میکروتیوب اضافه کرده و با دست به آرامی مخلوط نمایید.
- ۶- محتویات میکروتیوب را به ستون استخراج انتقال دهید و در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید.
- ۷- ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل کرده و ۵۰۰ میکرولیتر بافر شستشو اضافه کنید و در ادامه در ۸۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ نمایید.
- ۸- ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل کنید و در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ نمایید.
- ۹- ستون را به میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتر RNase/DNase free منتقل کرده و به میزان ۴۰ میکرولیتر آب مقطر DNase/RNase free گرم (۶۵ سانتیگراد) اضافه نمایید و به مدت ۳ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.
- ۱۰- میکروتیوب را در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ کنید. محلول به دست آمده حاوی DNA است.

* به دلیل ماهیت حامل که از جنس کربوهیدرات مقاوم به دما می باشد، می توانید حامل را به مدت ۱ ماه در دمای محیط و یا یخچال در صورت عدم آلودگی میکروبی (رعایت شرایط استریلیزاسیون) نگه داری کنید. در صورتیکه بیش از یک ماه نیاز به نگهداری حامل دارید، این ماده را در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری 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.

تمامی مراحل کار در زیر هود لامینار میکروبیولوژی انجام شود.

آدرس کارخانه

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

ناحیه غذا و دارو

۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳

۰۹۱۳۵۰۲۵۹۸۳

۰۲۱۹۱۶۹۲۲۹۶

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 مغنت

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 کارترین کیت های تخلیص: کیت تخلیص پلاسمید



DNA extraction kit from FFP tissues (CN: KPG-DNAFFP)

A short explanation about DNA extraction kit from paraffin tissue

This kit is capable of purifying DNA from paraffin tissue, the sample must be deparaffinized before purification. Deparaffinization of the tissue and its proper hydration are very important in the amount of DNA extraction. In this kit, two tissue deparaffinization methods are provided, the first method has a better efficiency (depending on the interest of the researcher, any of them can be used for extraction, although the recommendation of Karmania Pars gene Company is to use the first method). To use this kit, tissue sections with a thickness of 1-2 micrometers should be prepared and excess paraffins should be separated. The amount of extracted DNA depends on the number of tissue sections, the type of tissue and the time of deparaffinization of the tissue and other factors.

Kit component

Item	CN	Volume
Xylene	KPG-X	1 Vial 50 mL
Proteinase	KPG-PK	1 Vial 1 mL
TE buffer	KPG-TE	1 Vial 60 mL
Lysis solution B	KPG-KLSB107	1 Vial 20 mL
Binding buffer	KPG-B	1 Vial 5 mL
Precipitation solution	KPG-PS	1 Vial 15 mL
Carrier	KPG-Cr	1 Vial 500 µL
Washing buffer	KPG-WB	1 Vial 25 mL
DNase/RNase free water	KPG-DW	5 mL
High absorbance column tube	KPG-Column	50 pcs
Collection Tube	KPG-CT	100 pcs

First method for deparaffinization

- Place 5-10 tissue slices in a 2 ml microtube and add 1 ml of xylene and vortex for 5 seconds and then incubate for 2 minutes at room temperature.
- Centrifuge the microtube at 12,000 rpm for 1 minute and then discard the xylene so that the tissues do not come out. Repeat steps 2 and 3.
- Add 1 ml of 100% ethanol to the tube and vortex for 5 seconds and centrifuge at 12000 rpm for 1 minute. Next, drain the ethanol.
- Add 1 ml of 70% ethanol to the tube and vortex for 5 seconds, incubate for one minute at room temperature and then centrifuge at 12,000 rpm for 1 minute and then drain the ethanol.
- Add 1 ml of 50% ethanol to the tube and vortex for 5 seconds, incubate for one minute at room temperature and then centrifuge at 12,000 rpm for 1 minute and then drain the ethanol.
- Add 1 ml of sterile distilled water to the tube and vortex for 5 seconds, incubate for one minute at room temperature and then centrifuge at 12,000 rpm for 1 minute and then drain the distilled water.
- Add 1 ml of TE buffer to the tube and vortex for 5 seconds, incubate for one minute at room temperature and then centrifuge at 12,000 rpm for 1 minute and then drain the TE buffer.
- Add 100 microliters of TE buffer to the sample and vortex and perform DNA extraction according to the steps mentioned below.

The second method

- Place 5 to 10 tissue section in a 2 ml microtube and add 1 ml of and vortex for 5 seconds and then incubate for 2 minutes at room temperature.
- Centrifuge the microtube at 12,000 rpm for 1 minute and discard the xylene.
- Add 1 ml of xylene again and vortex for 5 seconds and then incubate for 2 minutes at room temperature.
- Centrifuge the microtube at 12,000 rpm for 1 minute and discard the xylene.
- Add 1 ml of 100% ethanol to the tube, vortex for 5 seconds and centrifuge at 12,000 rpm for 1 minute.
- Remove the ethanol completely (with the sampler) and place the microtube at 37 degrees Celsius for 30 minutes until all the ethanol evaporates.
- Add 100 microliters of TE buffer to the sample and vortex and perform DNA extraction according to the following steps.

DNA extraction protocol

- Add 20 microliters of proteinase K to the tube and incubate at 60 degrees Celsius for at least one hour.
- Add 400 microliters of lysis buffer to the microtube and vortex for 5 seconds.
- Add 100 microliters of binding buffer to the microtube and vortex for 5 seconds.
- Add 10 microliters of carrier (CN: KPG-Cr) to the microtube and mix vigorously for 5 seconds*.
- Add 300 microliters of precipitation buffer to the microtube and mix gently by hand.
- Transfer the contents of the microtube to the extraction column and centrifuge at 12,000 rpm for 1 minute.
- Transfer the column to a new collection tube and add 500 microliters of washing buffer and then centrifuge at 8000 rpm for 1 minute.
- Transfer the column to a new collection tube and centrifuge at 12,000 rpm for 1 minute.
- Transfer the column to a 1.5 ml RNase/DNase free microtube and add 40 microliters of DNase/RNase free distilled water (65°C) and incubate for 3 minutes at 65°C.
- Centrifuge the microtube at 12000 rpm for 1 minute. The resulting solution contains DNA.

* Due to the nature of the carrier, which is made of temperature-resistant carbohydrates, you can keep the carrier for 1 month at room temperature or in the refrigerator if there is no microbial contamination (observing sterilization conditions). If you need to store the carrier for more than a month, store this material at -20 degrees Celsius.

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. All work steps should be done under laminar microbiology hood.

Manufacture Address

Refsanjan, 20 km from Rafsanjan road to Kerman,
Rafsanjan special economic zone, food and drug area
09132926113
09135025983
021-91692296
Karmaniaparsgene@gmail.com

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:

- DNA extraction kits from blood and tissue by column
- DNA extraction kits from gram-positive and negative bacteria
- DNA extraction kit from mycobacterium
- DNA extraction kit from Fungi
- DNA extraction kit from virus
- DNA extraction kit from HPV virus
- DNA extraction kits from plant tissue

RNA extraction kits:

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

- RNA extraction kits from blood and tissue
- RNA extraction kits from gram-positive and negative bacteria
- RNA extraction kit from mycobacterium
- RNA extraction kit from Fungi
- The RNA extraction kit from the virus
- RNA extraction kits from plant tissue

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