BehMag Genomic DNA Extraction Kit (For BehGene BM-1000)

Cat No: BM201R08-16-64 Exp Date: 24 months / Store at RT

Ver:02 Cartridge

BehGene Biotechnology Company

1. محتویات کیت

Cat.No.	محتویات	تعداد/حجم در 8 واکنش	تعداد/حجم در 16 واکنش	تعداد/حجم در 64 واکنش	شرایط نگهداری
982	Cartridge	8	16	64	دمای اتاق
B739	stripTip- 8 Comb	2	6	16	دمای اتاق
BR161	Proteinase k	2mg	4 mg	15 mg	دمای اتاق
BR106	PK Buffer	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL	دمای اتاق
BR141	EB Blank	300µL	300µL	300µL	دمای اتاق

2. شرایط پایداری و نگهداری

- تمام محتویات کیت در صورت نگهداری مناسب در دمای اتاق (18-25 °C)، تا پایان تاریخ درج شده بر روی برچسب پایداری خواهند داشت.
- آنزیم پروتئیناز K قبل از آماده‌سازی قابل نگهداری در دمای اتاق می‌باشد. بعد از افزودن PK Buffer، آنزیم را در دمای 20°C- نگهداری نمایید.

3. معرفی

کیت استخراج Behmag Genomic DNA جهت استخراج DNA از نمونه ی خون، سازگار با دستگاه BehGene با استفاده آسان در کمترین زمان و بدون هرگونه خطا در مراحل آزمایش با برنامه های از پیش تعیین شده برروی دستگاه طراحی شده است.

4. حیطه کاربری

کیت استخراج دستگاهی BehMag Genomic DNA جهت استخراج DNA ژنومیک با روش مغناطیسی طراحی و بهینه‌سازی شده است. DNA استخراج شده در این روش دارای خلوص بالا و کمترین میزان آلودگی‌های پروتئینی، نمکی و مهارکننده‌های PCR می‌باشد. DNA استخراج شده می‌تواند مستقیماً در کاربردهای مولکولی نظیر qPCR مورد استفاده قرار گیرد.

نمونه های قابل استفاده

نمونه‌های خون از جمله خون تازه و فریز شده، خون با تعداد لوکوسیت پایین و بافی‌کوت

5. نکات مهم : لطفا قبل از استفاده مطالعه شود.

- قبل از استفاده به تاریخ انقضای درج شده بر روی برچسب کیت توجه نمایید و از سالم بودن کارتریج ها و شانه ها اطمینان حاصل نمایید.
- اگر دمای نگهداری کیت پایین‌تر از 20°C می‌باشد قبل از شروع فرآیند محتویات کیت را به دمای اتاق برسانید.
- به منظور جلوگیری از تشکیل حباب کارتریج ها را با شدت تکان ندهید.
- قرار گرفتن طولانی مدت بافرها در معرض هوا باعث تبخیر، تغییر pH و در نتیجه بازده پایین فرآیند استخراج می‌شود.
- تمامی بافرها و محلول‌های موجود در این کیت بی‌رنگ می‌باشند. تغییر رنگ در بافرها ممکن است به دلیل آلودگی باشد؛ در این موارد از آنها استفاده نکنید.
- به منظور جلوگیری از بیرون ریختن محلول موجود در چاهک‌ها، فویل آلومینیومی را با دقت و به آرامی از سطح کارتریج ها جدا نمایید.
- استفاده از تجهیزات و مواد مصرفی RNase, DNase-free در این فرآیند ضروری می‌باشد.
- از تغییر در روند فرآیند خودداری شود.

6. نکات ایمنی

- در تمام مراحل دستکش بپوشید و در صورت تماس بین دستکش و نمونه، آن را فوراً عوض کنید.
- برخی بافرهای این کیت حاوی نمک‌های گوانیدین می‌باشند. توجه داشته باشید که نمک‌های گوانیدین با محلول‌های سفید کننده واکنش نشان می‌دهند.
- از برخورد بافرها با چشم و پوست ممانعت کنید و در صورت تماس بافرها با پوست و چشم، فوراً محل مورد نظر را با آب فراوان شستشو دهید.
- هنگام کار، از دستورالعمل‌های توصیه‌شده برای کار با مواد زیستی خطرناک پیروی کنید.

7. تجهیزات و مواد مورد نیاز

- دستگاه استخراج اتوماتیک BehGene
- سمپلر µL 100-1000 و سرسمپلر (RNase, DNase-free)
- میکروتیوب 1.5 mL (RNase, DNase-free)
- دستکش یکبار مصرف

8. آماده سازی بافرها

آنزیم پروتئیناز K را مطابق جدول زیر با افزودن مقدار مناسبی از PK بافر به آنزیم لیوفیلیزه آماده کنید:

	8 واکنش	16 واکنش	64 واکنش
PK Buffer	125 µL	250 µL	1 mL
Proteinase K	2 mg	4 mg	15 mg

- **توجه داشته باشید آنزیم بعد از آماده‌سازی باید در دمای 20°C- نگهداری شود.**

9. جمع آوری و نگهداری نمونه

- نمونه خون محیطی و خون بکار گرفته شده در آماده‌سازی بافی‌کوت را در تیوب‌های حاوی ترکیبات ضد انعقاد مانند EDTA و سیترات سدیم جمع‌آوری کنید.
- نمونه خون محیطی تازه و بافی‌کوت را می‌توانید به مدت 6 ساعت در دمای اتاق نگهداری کنید.
- نمونه خون محیطی و بافی‌کوت به مدت یک هفته در دمای 2-8°C قابل نگهداری می‌باشند. به منظور نگهداری طولانی مدت آنها را در دمای 20°C- قرار دهید.

10. مراحل آماده‌سازی نمونه اولیه

خون محیطی: در صورت استفاده از خون محیطی، میزان µL 300 از خون را مستقیما جهت فرآیند استخراج استفاده نمایید.

خون سانتریفیوژ شده/خون با تعداد لوکوسیت پایین: میزان µL 600 نمونه را در 8000 rpm به مدت 4 دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ نمایید. سپس µL 300 از لایه رویی تشکیل شده (پلاسما) را به وسیله سمپلر جدا کرده و دور بریزید. بافر لایز را از چاهک اول کارتریج به وسیله سمپلر خارج کرده و به محتویات تیوب (µL 300) اضافه کنید. نمونه و بافر لایز را چندین بار پیپتاژکرده و محلول حاصل را به وسیله سمپلر به چاهک اول کارتریج (چاهک لایز) انتقال دهید.

بافی‌کوت: جهت جداسازی بافی‌کوت، میزان µL 1500 خون محیطی (حاوی ترکیبات ضد انعقاد) را در x 2500 g به مدت 10 دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ نمایید، پس از آن 3 لایه مجزا مشاهده می‌شود که به ترتیب از بالا به پایین، پلاسما، بافی‌کوت و رسوب گلبول‌های قرمز می‌باشد. ابتدا به گونه‌ای که لایه بافی‌کوت آسیبی نبیند، پلاسما را بردارید و دور بریزید و به آرامی با استفاده از پیپت µL 300 بافی‌کوت را جدا کرده و جهت فرآیند استخراج استفاده نمایید.

فرایند استخراج

1. با احتیاط کامل فویل آلومینیومی کارتریج را جدا کنید.
2. میزان 300 µL نمونه و 15 µL پروتئیناز K را به چاهک اول اضافه کنید.
3. نمونه، بافر و آنزیم پروتئیناز K را به وسیله پیپتاژکردن کاملاً همگن نمایید.
4. کارتریج‌ها را درون صفحه فلزی مخصوص دستگاه قرار داده و از جهت‌گیری صحیح صفحه فلزی درون دستگاه اطمینان حاصل نمایید.
5. شانه‌ها را درون جایگاه خود در دستگاه قرار دهید و از محکم بودن آنها درون جایگاه خود اطمینان حاصل نمایید.
6. درب دستگاه را ببندید.
7. اگر از نمونه خون محیطی یا نمونه خون با تعداد لوکوسیت پایین استفاده می‌کنید، برنامه Blood gDNA، و اگر از بافی‌کوت یا خون سانتریفیوژ شده استفاده می‌کنید، برنامه Blood gDNA Plus را انتخاب کنید و دکمه Run را فشار دهید.

- **نکته:** اگر نمونه اولیه شما خون سانتریفیوژ شده یا بافی‌کوت می‌باشد، بعد از اتمام برنامه Blood gDNA Plus ، در منوی دستگاه برنامه Re-Elution را Run کنید.

8. بعد از تمام شدن برنامه، کارتریج‌ها را با احتیاط از دستگاه خارج کنید.
9. به وسیله سمپلر DNA استخراج شده را از چاهک‌های آخر خارج کرده و به میکروتیوب‌های تمیز انتقال دهید.
10. کارتریج‌ها و شانه‌ها را دور بریزید.

- **نکته 1:** در صورت مشاهده بیدهای مغناطیسی و یا زرد بودن رنگ بافر در چاهک الوشن، به منظور جداسازی ذرات، محلول را به مدت 2 دقیقه در 8000 rpm سانتریفیوژ نمایید.
- **نکته 2:** جهت خوانش غلظت با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (نانو دراپ) از محلول EB Blank به عنوان Blank استفاده کنید.

چالش ها و راه کارها

مسئله	علت	راه حل
غلظت پایین DNA	• کافی نبودن مقدار نمونه اولیه • لایز نامناسب نمونه • عملکرد نامناسب آنزیم پروتئیناز K • مخلوط شدن بافرهای کارتریج ها	• از حداقل 300 µL نمونه استفاده کنید. • حداقل 1ساعت از زمان نمونه گیری گذشته باشد. • آماده سازی و شرایط نگهداری آنزیم پروتئیناز را دقت کنید. • از کیت دیگر استفاده کنید.
نسبت 260/280 و 260/230	• استفاده از نمونه خونی که مدت زیادی در یخچال مانده است • از مقدار زیاد نمونه استفاده نکنید. • لایز نامناسب نمونه • عملکرد نامناسب آنزیم پروتئیناز K	• از نمونه خون محیطی که کمتر از یک هفته در یخچال مانده است استفاده کنید. • از مقدار 300 µl نمونه استفاده کنید. • حداقل 1 ساعت از زمان نمونه گیری گذشته باشد. • آماده سازی و شرایط نگهداری آنزیم پروتئیناز را دقت کنید.

مفهوم	نماد	مفهوم	نماد
محدودیت دمایی		کاربرد تشخیصی	IVD
تعداد تست		اطلاعات کارخانه	
تاریخ انقضا		تاریخ تولید	
هشدارات ایمنی		از تابش نور دور نگه داشته شود	
حاوی دستورالعمل استفاده از محصول		احتیاط	
کد کالا	REF	شماره سری ساخت	LOT

www.Behgene.com
09912070924
Info@Behgene.com
Behgene Biotechnology Company
Especial Economic Zone, Shiraz, Iran