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

Cat No: BM201R96 (WellPlate) Exp Date: 24 months / Store at RT

Ver:02

BEHGENE Biotechnology Company

1. محتویات کیت

CAT.NO.	محتویات	تعداد/حجم در 16 واکنش	تعداد/حجم در 96 واکنش	شرایط نگهداری
861	Well Plate	1	6	دمای اتاق
B739	8-strip Tip Comb	4	12	دمای اتاق
BR161	Proteinase K	4 mg	23 mg	بعد از آماده‌سازی – 20°C
BR106	PK Buffer	1.5 mL	1.5 mL	دمای اتاق
BR141	EB Blank	300 µL	300 µL	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 DNAجهت استخراج DNA با خلوص بالا از نمونه ی خون 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 تیپ 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 پلیت 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 100–1000 µL 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:

	16 واکنش	96 واکنش
PK Buffer	250 µL	1.5 mL
Proteinase K	4 mg	23 mg

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

9. جمع آوری و نگهداری نمونه

1. 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.
2. نمونه خون محیطی تازه و بافی‌کوت را می‌توانید به مدت 6 ساعت در دمای اتاق نگهداری کنید.
3. 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

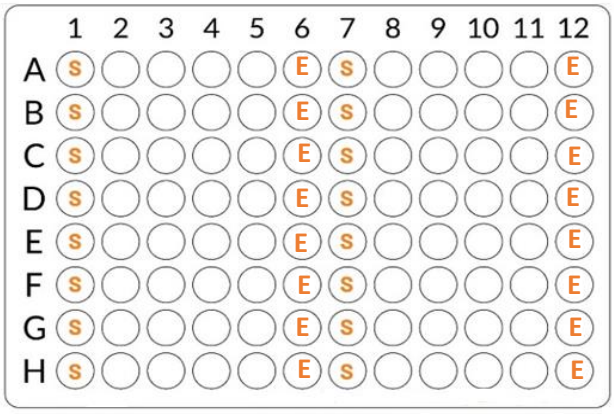
خون محیطی: در صورت استفاده از خون محیطی، میزان 300 µL از خون را مستقیما جهت فرآیند استخراج استفاده نمایید.

خون سانتریفیوژ شده/خون با تعداد لوکوسیت پایین: میزان 600 µL نمونه را در 8000 rpm به مدت 4 دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ نمایید. سپس 300 µL از لایه رویی تشکیل شده (پلاسما) را به وسیله سمپلر جدا کرده و دور بریزید. بافر لایز را از چاهک اول پلیت (یکی از چاهک های A1–H1 و A7–H7) به وسیله سمپلر خارج کرده و به محتویات تیوب (300 µL) اضافه کنید. نمونه و بافر لایز را چندین بار پیپتاژکرده و محلول حاصل را به وسیله سمپلر به چاهک اول پلیت (چاهک لایز) انتقال دهید.

بافی کوت: جهت جداسازی بافی‌کوت، میزان 1500 µL خون محیطی (حاوی ترکیبات ضد انعقاد) را در 2500 x 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 300 µL بافی‌کوت را جدا کرده و جهت فرآیند استخراج استفاده نمایید.

فرایند استخراج

- WellPlate



S = Add Sample

E= Elution Buffer

1. با احتیاط کامل فویل آلومینیومی پلیت را جدا کنید.
2. میزان 300 µL نمونه و 15 µL پروتئیناز K را به چاهک اول (یکی از چاهک های A1–H1 و A7–H7) اضافه کنید.
3. نمونه، بافر و آنزیم پروتئیناز K را به وسیله پیپتاژکردن کاملاً همگن نمایید.
4. پلیت‌ها را درون دستگاه قرار داده و از جهت‌گیری صحیح آن 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 می کنید، برنامه Blood gDNA، و اگر از بافی‌کوت یا خون سانتریفوژ 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، پلیت‌ها 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. پلیت‌ها 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 در8000 rpmسانتریفیوژ 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 پلیت 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 1ساعت 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 زیستی		از تابش نور دور نگه داشته شود	
حاوی دستورالعمل استفاده از محصول		احتیاط	
کد کاتا	REF	شماره سری ساخت	LOT