BehMag Viral Nucleic Acid Extraction Kit (For BehGene BM–1000)

Cat No: BM202R96 (WellPlate) Exp Date: 24 months / Store at RT

Ver:02

BEHGENE Biotechnology Company

1. محتویات کیت

CAT.NO.	محتویات	تعداد/حجم در16 واکنش	تعداد/حجم در96 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 آماده سازی -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 Viral Nucleic Acid جهت استخراج DNA ویروسی 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 Viral Nucleic Acid جهت استخراج DNAویروسی با روش مغناطیسی طراحی و بهینه‌سازی شده است. نوکلئیک اسید استخراج شده در این روش دارای خلوص بالا و کمترین میزان آلودگی‌های پروتئینی، نمکی و مهارکننده‌های PCR می‌باشد و می‌تواند مستقیماً در کاربردهای مولکولی نظیر qPCR مورد استفاده قرار گیرد.

نمونه های قابل استفاده

نمونه‌های Liquid–based (پاپ اسمیر) و نمونه سوآب

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 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:

	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. مراحل آماده‌سازی نمونه اولیه

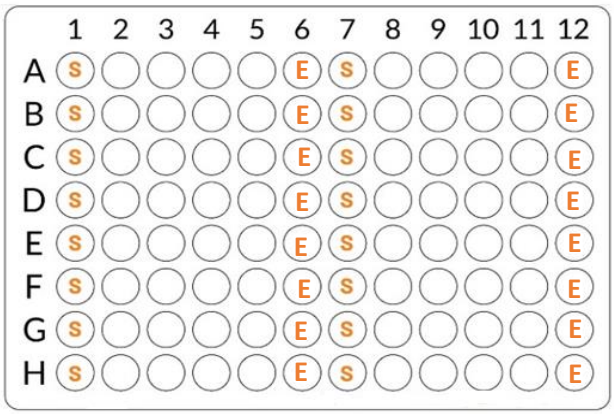
آماده‌سازی نمونه Liquid–based

جهت تغلیظ نمونه میزان 5 mL از نمونه را در 4500 rpm به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ کنید. مایع رویی را بدون آسیب به رسوب تشکیل شده خارج کرده و 300 µL از مایع را بر روی رسوب باقی بگذارید. رسوب را به وسیله ورتکس حل نمایید و از محلول حاصل جهت فرآیند استخراج استفاده نمایید.

چنانچه در آزمایشگاه مولکولی خود سانتریفیوژ لوله فالکون موجود ندارید به منظور تغلیظ، میزان 2 mL نمونه را در(8000 rpm) 6000 x g سانتریفیوژ نمایید. در صورت کافی نبودن رسوب تشکیل شده، این فرآیند را تکرار کنید.

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. جهت استخراج از نمونه Liquid-based، برنامه Viral را انتخاب کرده و دکمه Run را فشار دهید.
8. بعد از تمام شدن برنامه، پلیت‌ها را با احتیاط از دستگاه خارج کنید.
9. به وسیله سمپلر نوکلئیک اسید استخراج شده را از چاهک‌های آخر خارج کرده و به میکروتیوب‌های تمیز (RNase, DNase-free) انتقال دهید.
10. پلیت‌ها و شانه‌ها را دور بریزید.

- **نکته:** 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.

چالش ها و راه کارها

مسئله	علت	راه حل
غلظت پایین نوکلئیک اسید	• 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 1 ساعت از زمان نمونه گیری گذشته باشد. • آماده سازی و شرایط نگهداری آنزیم پروتئیناز را دقت کنید. • از کیت دیگر استفاده کنید.
آلودگی با مهار کننده ها	• از مقدار زیاد نمونه استفاده نکنید. • عملکرد نامناسب آنزیم پروتئیناز K	• از مقدار 300µL نمونه استفاده کنید. • آماده سازی و شرایط نگهداری آنزیم پروتئیناز را دقت کنید.

مفهوم	نماد	مفهوم	نماد
محدودیت دمایی	-15 +27	کاربرد تشخیصی	IVD
تعداد تست	Σ	اطلاعات کارخانه	
تاریخ انقضا		تاریخ تولید	
محافظت زیستی		از تابش نور دور نگه داشته شود	
حاوی دستورالعمل استفاده از محصول		احتیاط	
کد کالا	REF	شماره سری ساخت	LOT