BehMag Genomic DNA Extraction Kit (For Bioperfectus)

Cat No: BM201 (Cartridge) Exp Date: 24 months / Store at RT

Ver: 01

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
C986	strip Tip8Comb	2	6	16	دمای اتاق
BR161	Proteinase K	3 mg	5 mg	20 mg	بعد از آماده سازی -20°C
BR106	PK Buffer	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL	دمای اتاق
BR141	EB Blank	300 µL	300 µL	300 µL	دمای اتاق

2. شرایط پایداری و نگهداری

- تمام محتویات کیت در صورت نگهداری مناسب در دمای اتاق (25 °C–18)، 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 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 با روش مغناطیسی و سازگار با دستگاه استخراج Bioperfectus طراحی شده است. DNA استخراج شده در این روش دارای خلوص بالا و کمترین میزان آلودگیهای پروتئینی، نمکی و مهارکنندههای PCR میباشد و مستقیماً در کاربردهای مولکولی نظیر qPCR مورد استفاده قرار می گیرد.

نمونه های قابل استفاده

نمونه های خون از جمله خون تازه و فریز شده، خون با تعداد لوکوسیت پایین و بافی کوت

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 اطمینان حاصل نمایید.
- اگر دمای نگهداری کیت پایین تر 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 محلول های موجود در این کیت بی رنگ 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 چاهک ها، 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 دستورالعمل های توصیه شده برای کار با مواد زیستی خطرناک پیروی کنید.

7. تجهیزات و مواد مورد نیاز

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

8. آماده سازی بافرها

آنزیم پروتئیناز K

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	3 mg	5 mg	20 mg

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

جمعآوری 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 8°C–2 قابل نگهداری میباشند.

- به منظور نگهداری طولانی مدت آنها را در دمای 20°C– قرار دهید.

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 6000 x g (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 پیپتاژ کرده 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 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 µL 300 بافیکوت را جدا کرده و جهت فرآیند استخراج استفاده نمایید.

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

1. با احتیاط کامل فویل آلومینیومی کارتریج را جدا کنید.
2. میزان 300 µL نمونه و 15 µL پروتئیناز K را به چاهک اول (چاهک لایز) اضافه کنید.
3. نمونه، بافر و آنزیم پروتئیناز K را به وسیله پیپتاژ کردن کاملاً همگن نمایید.
4. کارتریج را درون دستگاه قرار داده و از جهت‌گیری صحیح کارتریج در 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. برنامه Whole Blood DNA، را انتخاب کنید و دکمه Run را فشار دهید.
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) 6000 x g سانتریفیوژ نمایید.

نکته 2: جهت خوانش غلظت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (نانو دراپ) از محلول بلانک همراه کیت به عنوان Blank استفاده کنید.

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

چالش ها و راه کار

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 1 ساعت 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

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