BehMag Genomic DNA Extraction Kit (For Bioperfectus)

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

Ver:01

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
C986	8 –strip Tip Comb	4	12	دمای اتاق
BR161	Proteinase K	5 mg	30 mg	
BR106	PK Buffer	1.5 ml	1.5 mL	دمای اتاق
BR141	EB Blank	500 µL	500 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 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 می‌تواند مستقیماً در کاربردهای مولکولی نظیر qPCR مورد استفاده قرار گیرد.

نمونه های قابل استفاده

خون تازه و فریز شده، خون با تعداد لوکوسیت پایین ، بافی‌کوت و همچنین DNA ویروسی از نمونه های liquid–based

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 Bioperfectus
- 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	5 mg	30 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 تیوب–های 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 6000 x g (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 پیپتاژ کرده 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

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 6000 x g (8000 rpm) سانتریفیوژ نمایید. در صورت کافی نبودن رسوب تشکیل شده، این فرآیند را تکرار کنید.

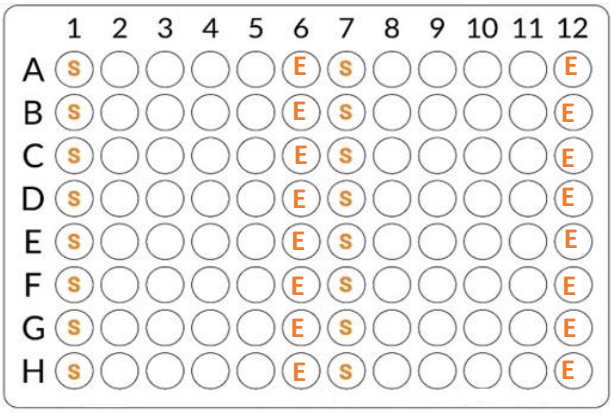
فرایند استخراج

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) (چاهک لایز) اضافه کنید.
3. نمونه، بافر و آنزیم پروتئیناز K را به وسیله پیپتاژکردن کاملاً همگن نمایید.
4. پلیت را درون دستگاه قرار داده و از جهت‌گیری صحیح پلیت 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، پلیت‌ها را با احتیاط از دستگاه خارج کنید.
9. به وسیله سمپلر، DNA استخراج شده را از چاهک‌های آخر خارج کرده و به میکروتیوب-های 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 در 6000 x g (8000 rpm) سانتریفیوژ نمایید.

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

- WellPlate



S = Add Sample

E= Elution Buffer

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 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 9 260/230	• 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	
دارو دستور العمل 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