BehPrep **Bacterial DNA** Extraction Kit

For Manual Isolation of Gram-positive and Gram-negative Bacterial DNA Based on spin Column

Cat Number: BP121

Ver: 02

- در دمای اتاق نگهداری شود
- تاریخ انقضاء: سه سال پس از تولید

فهرست

محتویات کیت 3

شرایط پایداری و نگهداری 3

معرفی 4

توضیحات 4

حیطه کاربری 4

نکات مهم : 5

تجهیزات و مواد مورد نیاز که باید فراهم شوند 5

نکات ایمنی 6

آماده سازی بافرها 6

Proteinase K 6

Binding Buffer 6

Lysozyme 7

آماده سازی نمونه ها 7

مایعات زیستی بدن شامل سرم، پلاسما، CSF و سایر 7

نمونه سوآپ چشمی، بینی، حلق و سایر 7

نمونه خلط (Sputum) 8

نمونه Liquid-Based 8

نمونه BAL (Bronchoalveolar Lavage) 9

محیط کشت 9

محیط کشت مایع 9

محیط کشت خون 10

خون محیطی 10

نمونه ادرار (Urine) 10

نمونه مدفوع (Stool) 11

فرایند (باکتری گرم منفی) 11

فرایند (باکتری گرم مثبت) 13

چالش‌ها و راه کارها 14

کنترل کیفیت 16

تاریخچه ویرایش پروتکل 17

محتویات کیت

CAT.NO	محتویات	10 واکنش BP121R010	50 واکنش BP121R050	شرایط نگهداری
	Spin Column	10 pcs	50 pcs	دمای اتاق
	Collection Tube	40 pcs	200 pcs	دمای اتاق
BR153	Lyso buffer	7 mL	27 mL	دمای اتاق
BR155	Lysozyme	1 vial (10 mg)	1 vial (50 mg)	بعد از آماده سازی -20°C
BR154	Binding Buffer	4 mL	12 mL	دمای اتاق
BR102	WB1 Buffer	7 mL	30 mL	دمای اتاق
BR103	WB2 Buffer	13 mL	62 mL	دمای اتاق
BR104	EB Buffer	3 mL	11 mL	دمای اتاق
BR110	BT Buffer	4 mL	12 mL	دمای اتاق
BR105	Proteinase k	1 vial (4 mg)	1 vial (20mg)	بعد از آماده سازی -20°C
BR106	PK Buffer	2 mL	2 mL	دمای اتاق

شرایط پایداری و نگهداری

- ستون‌ها در کیسه‌های زیپ دار بسته بندی شده‌اند و در دمای اتاق (18–25 °C) تا پایان تاریخ انقضاء کیت پایداری خواهند داشت.
- همه محلول‌ها شفاف هستند و در صورت تشکیل رسوب نباید از آنها استفاده کرد
- محلول‌ها را در دمای اتاق (18–25 °C) و یا در حمام آب 37 °C گرم کنید تا رسوبات حل شوند.
- بافرها ممکن است تا حدودی زرد رنگ باشند که هیچ تأثیری در عملکرد آنها نخواهد داشت.
- درب بافرها را بلافاصله بعد از استفاده ببندید.

توجه: نگهداری در دمای 2–8 °C (یخچال) یا 15– تا 25– °C (فریزر) به دلیل تشکیل رسوب در محلول‌ها، تأثیر منفی بر روی تخلیص DNA خواهد گذاشت.

معرفی

کیت استخراج ستونی Behprep Bacterial DNA Extraction Kit با متد آسان و بازدهی بالا جهت خالص سازی DNA باکتری های گرم منفی، گرم مثبت و باکتری های اسید فاست(Acid Fast) طراحی شده است. این کیت شامل استخراج DNA باکتری از نمونه های زیستی بدن مانند خون، سرم، CSF، BAL، ادرار، مدفوع، Liquid Based، Sputum(خلط) و نمونه های کشت داده شده جامد و مایع می باشد. با توجه به فراوانی گونه های باکتریایی و چالش در لایز این نوع نمونه ها، بکارگیری بافر لایز قوی و آنزیم لیزوزیم مناسب در این کیت موجب عملکرد عالی این محصول در استخراج DNA از باکتری ها می شود. میزان DNA استخراج شده با توجه به نوع نمونه و مقدار آن متفاوت است اما به طور کلی بازدهی DNA باکتری استخراج شده در این کیت، از مقدار 2×10^{9} باکتری، 5–10µg می باشد.

توضیحات

برخی از باکتری‌ها به خصوص باکتری‌های گرم مثبت(مانند استافیلوکوک‌ها) نیاز به انکوباسیون با آنزیم‌های خاص نظیر لیزواستافین (**Cat: BR210**) برای تجزیه دیواره سلولی سخت و چند لایه خود دارند. در نظر گرفتن آنزیم لیزواستافین قوی و تایم کافی انکوباسیون، باعث شده است تا استخراج DNA در این نمونه ها با بازدهی بالا انجام گیرد. (**این آنزیم را می توانید به صورت جدا از شرکت ویستا به ژن خریداری کنید**).

حیطه کاربری

کیت استخراج ستونی Behprep Bacterial DNA Extraction Kit جهت استخراج دستی DNA باکتری های گرم منفی و گرم مثبت به روش ستونی طراحی و بهینه سازی شده است.

نکات مهم : لطفا قبل از استفاده مطالعه شود.

- تمامی مراحل سانتریفیوژ در دمای اتاق (18–25 °C) انجام می‌شود.
- از چرخه انجماد–ذوب خودداری شود.
- قبل از استفاده، تمامی نمونه‌ها و بافرها را به دمای اتاق برسانید.
- قبل از استفاده، بافرها را کاملاً همگن نمایید.
- پروتئیناز K و لیزوزیم را قبل از استفاده ورتکس نمایید.
- محلول‌ها و نمونه‌ها را با دقت بدون تماس با دیواره و لبه‌ها به مرکز غشاء ستون اضافه نمایید.
- بعد از هر انتقال مایع به وسیله سمپلر، سرسمپلر باید تعویض گردد. استفاده از سرسمپلر فیلتردار برای کاهش آلودگی احتمالی توصیه می‌گردد.
- از تماس نوک سرسمپلر با غشاء ستون خودداری کنید.
- توصیه می‌شود بعد از Pulse–vortexing تیوب‌ها را اندکی سانتریفیوژ کنید تا قطرات مایع از درب تیوب‌ها جدا شوند.
- به منظور جلوگیری از تشکیل آئروسل، درب ستون‌ها را در طول سانتریفیوژ ببندید.

تجهیزات و مواد مورد نیاز که باید فراهم شوند

- سمپلر 10–100 µL و 100–1000 µL و سرسمپلر (RNase, DNase–free)
- میکروتیوب 2 mL (RNase, DNase–free)
- ورتکس
- اتانول 100%
- ترموبلاک (دمای 37 °C و 56 °C و 70 °C)
- میکروسانتریفیوژ
- کالکشن تیوب 2 ml
- بافر RBC Lysis (در صورت استفاده از نمونه خون)

نکات ایمنی

- بافرهای Binding، BT و WB1 حاوی نمک‌های گوانیدین می‌باشند، از این رو هنگام استفاده از آن‌ها احتیاط نمایید. نمک‌های گوانیدین با محلول‌های سفیدکننده واکنش نشان می‌دهند.
- در تمام مراحل دستکش بپوشید و در صورت تماس بین دستکش و نمونه، آن را فوراً عوض کنید.
- از برخورد بافرها با چشم و پوست خودداری کنید.
- هنگام کار، از دستورالعمل‌های توصیه‌شده برای کار با مواد زیستی خطرناک پیروی کنید.
- به منظور از بین بردن آلودگی ها، بعد از اتمام هر تست از UV فضای آزمایشگاه یا هود لامینار به مدت 20-10 دقیقه استفاده کنید.

آماده سازی بافرها

Proteinase K

میزان مناسب از بافر نگهدارنده PK (PK Buffer) را مطابق جدول زیر به میکروتیوب حاوی پروتئیناز K اضافه کرده و به مدت 20 ثانیه به خوبی ورتکس کنید. آنزیم پروتئیناز K آماده مصرف می‌باشد.

- **توجه داشته باشید آنزیم پروتئیناز k آماده شده باید در دمای 20 °C- نگهداری شود.**

مقدار پروتئیناز K	4 mg	20 mg
مقدار بافر PK	200µl	1 mL

Binding Buffer

مقدار مناسب اتانول 100 یا 96 درصد را مطابق جدول زیر به بطری حاوی Binding Buffer اضافه کرده و پس از بستن درب بطری به مدت 20 ثانیه به خوبی مخلوط کنید. Binding Buffer آماده مصرف می‌باشد.

- **توجه داشته باشید به منظور جلوگیری از رسوب بافر، آن را در دمای اتاق نگه دارید**

12 mL	4 mL	مقدار Binding Buffer
21 mL	7 mL	مقدار اتانول

Lysozyme

مقدار مناسب از بافر Lyso Buffer را مطابق جدول زیر به میکروتیوب حاوی لیزوزیم اضافه کنید و به مدت 20 ثانیه به خوبی ورتکس کنید.آنزیم لیزوزیم آماده مصرف می‌باشد.

- **توجه داشته باشید آنزیم لیزوزیم آماده شده باید در دمای 20 °C– نگهداری شود.**

50 mg	10 mg	مقدار لیزوزیم
1mL	200µl	مقدار LysoBuffer

سایر بافرهای این کیت آماده مصرف می‌باشند.

آماده سازی نمونه ها

مایعات زیستی بدن شامل سرم، پلاسما، CSF و سایر

1. میزان 1 mL نمونه را در (7500rpm) 5000x g به مدت 5 دقیقه رسوب دهید.
2. سپس مایع رویی را خارج کنید.
3. در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری، از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

نمونه سوآپ چشمی، بینی، حلق و سایر

1. نمونه جمع‌آوری شده را در 2 mL بافر فسفات سالین حاوی ترکیبات ضد قارچ قرار دهید و سپس نمونه را به مدت 2 تا 3 ساعت در دمای اتاق (18–25°C) انکوبه نمایید.
2. نمونه را به وسیله سانتریفیوژ با حداکثر سرعت، رسوب دهید. سپس مایع رویی را خارج کنید.

3. در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری، از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

نمونه خلط (Sputum)

1. مقدار 1 mL نمونه خلط و برابر با حجم آن، محلول NaOH (1M) را اضافه کرده و نمونه را کاملاً ورتکس نمایید.
2. نمونه را به مدت 15 دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید تا قابل پیپت کردن شود و سپس در (7500rpm) 5000x g به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ کنید.
3. مایع رویی را خارج کنید.
4. در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری، از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

نمونه Liquid–Based

1. جهت تغلیظ نمونه میزان 1–5 mL از نمونه را در (7500rpm) 5000x g به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ کرده، مایع رویی را کاملا خارج کنید به صورتی که فقط رسوب سلولی باقی بماند.
   - چنانچه در آزمایشگاه مولکولی خود سانتریفیوژ لوله فالکون موجود ندارید به منظور تغلیظ، میزان 2 mL نمونه را در میکروتیوب در دور (7500rpm) 5000x g سانتریفیوژ نمایید. در صورت کافی نبودن رسوب تشکیل شده، این فرآیند را تکرار کنید.
   - از آنجایی که غلظت و کیفیت نهایی DNA استخراج شده وابسته به نحوه نمونه گیری و میزان سلول های موجود در نمونه Liquid–based می باشد، نیاز است میزان رسوب سلولی قابل توجهی پیش از شروع فرایند استخراج تشکیل شود.

2. در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری، از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

نمونه BAL (Bronchoalveolar Lavage)

1. حداقل میزان 10 mL از نمونه BAL را درون فالکون 50 mL یا 15 mL انتقال داده و در 300 x g به مدت 10–5 دقیقه سانتریفیوژ نمایید.
2. محلول رویی را دور ریخته و رسوب به دست‌آمده را در 1 mL بافر PBS (1X) حل نمایید و به تیوب 2 mL انتقال دهید. تیوب را به خوبی ورتکس نمایید تا رسوب کاملاً حل شود، سپس در 10,000 x g به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ کنید.
3. مایع رویی را خارج کنید.
4. در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری، از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

توجه: نمونه‌های BAL کمتر از 10 mL، تا 70% بازده استخراج DNA باکتریایی را پایین می‌آورد.

محیط کشت

1. مقدار 2×10^{9} باکتری را به وسیله لوپ از محیط کشت جدا کرده در 200µl بافر PBS (1X) حل کنید.
2. میکروتیوب را در بالاترین سرعت به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ کنید.
3. سپس مایع رویی را بدون برهم خوردن رسوب سلولی خارج کنید.
4. و در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

محیط کشت مایع

1. میزان 1 mL از محیط کشت باکتریایی(مقدار 2×10^{9} باکتری) را به درون میکروتیوب 2 mL انتقال دهید و در بالاترین سرعت به مدت 30 ثانیه سانتریفیوژ نمایید.
2. سپس مایع رویی را خارج کنید.

3. در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری، از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

1. میکروتیوب را در دور 5000x g (7500rpm) به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ کنید.
2. مایع رویی را خارج کنید.
3. در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری، از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

محیط کشت خون

1. میزان 1–5 ml از محیط کشت را درون فالکن ریخته و با بالاترین دور و به مدت زمان 5 دقیقه سانتریفیوژ کنید. سپس مایع رویی را بدون آسیب به رسوب سلولی خارج کنید.
2. در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری، از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

خون محیطی

1. میزان 1–5 mL خون کامل را درون فالکن ریخته سه برابر حجم خون (3–15 ml) بافر RBC Lysis 1x اضافه نموده و به مدت 5 دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید.
2. میکروتیوب را با سرعت 3000 x g به مدت 3 دقیقه سانتریفیوژ کنید و سپس بدون جدا شدن رسوب سلولی، مایع رویی را خارج کنید.
3. در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری، از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

نمونه ادرار (Urine)

1. مقدار 1–2mL نمونه ادرار را درون یک میکروتیوب 2 mL تمیز بریزید و در دور 5000x g (7500rpm) به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ کنید.

2. سپس مایع رویی را خارج کنید.
3. در ادامه با توجه به نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن باکتری، از فرایند مربوطه آن، عمل نمایید.

نمونه مدفوع (Stool)

4. مقدار 50 mg نمونه مدفوع را 500 µl بافر PBS (1X) کاملا مخلوط کنید و ورتکس کنید.
5. میکروتیوب را به مدت 10 دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. در طول زمان انکوباسیون، تیوب را 3 مرتبه در فواصل زمانی مختلف Pulse-vortex کنید. میکروتیوب را کمی سانتریفیوژ کنید تا قطرات مایع از درب تیوب جدا شوند.
6. میکروتیوب را در دور (7500rpm) 5000x g به مدت 15 ثانیه سانتریفیوژ کنید.(رسوبات جامد مدفوع در این مرحله حذف می شوند)
7. بدون خارج کردن رسوب جامد، مایع رویی را به یک میکروتیوب 2 mL جدید منتقل کنید.

فرایند (باکتری گرم منفی)

1. به رسوب باکتریایی میزان 200µl بافر BT به همراه 20µl پروتئیناز K اضافه کنید. به وسیله ورتکس کاملاً مخلوط کنید. میکروتیوب را اندکی سانتریفیوژ کنید تا قطرات مایع از درب تیوب جدا شوند.
2. میکروتیوب را به مدت 20 دقیقه در دمای 56°C انکوبه کنید. در طول زمان انکوباسیون میکروتیوب را 3 مرتبه در فواصل زمانی مختلف ورتکس نمایید.

3. سپس میکروتیوب را به مدت 10 دقیقه در دمای C ° 70 انکوبه کنید . در طول زمان انکوباسیون میکروتیوب را 2 مرتبه در فواصل زمانی مختلف ورتکس نمایید.
4. میزان µL 550 بافر Binding آماده شده را به نمونه اضافه کنید و به مدت 20 ثانیه Pulse-vortex نمایید تا کاملاً مخلوط شوند. میکروتیوب را کمی سانتریفیوژ کنید تا قطرات مایع از درب تیوب جدا شوند.
5. تمام محلول حاصل از مرحله قبل را بدون تماس با دیواره و لبه‌ها به ستون اضافه کنید و در (8000 rpm) 6000 x g به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ نمایید. کالکشن تیوب و مایع عبوری را دور بریزید.
6. میزان µL 500 بافر WB1 را اضافه کرده و در (8000 rpm) 6000 x g به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ کنید. کالکشن تیوب و مایع عبوری را دور ریخته و ستون را در کالکشن تیوب جدید قرار دهید.
7. میزان µL 600 بافر WB2 را اضافه کرده و در (8000 rpm) 6000 x g به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ کنید. کالکشن تیوب و مایع عبوری را دور ریخته و ستون را در کالکشن تیوب جدید قرار دهید.
8. بار دیگر مرحله 7 را تکرار نمایید.
9. ستون را با حداکثر سرعت (13000 rpm) به مدت 3 دقیقه سانتریفیوژ کنید تا غشاء کاملاً خشک شود. سپس کالکشن تیوب و مایع عبوری را دور بریزید.

- توصیه می‌شود در مرحله 8 کالکشن تیوب و مایع عبوری را دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید (باید توسط کاربر فراهم شود) انتقال دهید.
- هرگونه انتقال بافر WB2 در این مرحله می‌تواند به‌عنوان بازدارنده در فرآیندهای مولکولی بعد از استخراج عمل کند.
- انجام این مرحله از انتقال بافر WB2 به مرحله الوشن جلوگیری می‌کند.
- برای خشک شدن بهتر فیلتر می توانید درب ستون را به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق باز گذاشته و سپس مراحل بعد را انجام دهید.

10. ستون را در یک میکروتیوب 1.5 mL تمیز قرار دهید. 70 µL از بافر EB را که از قبل در دمای 60°C گرم شده است، به مرکز غشاء ستون اضافه کنید. درب ستون را ببندید و 5 دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید. سپس در (8000 rpm) 6000 x g به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ کنید.

- استفاده کمتر از 70 µL بافر EB باعث افزایش قابل توجه غلظت DNA در مایع عبوری می‌شود، اما میزان DNA استخراج شده را کمی کاهش می‌دهد.
- شستشوی غشاء با حجم کمتر از 50 µL بافر EB توصیه نمی‌شود، زیرا باعث کاهش قابل توجه میزان DNA استخراج شده می‌شود.
- به طور کلی بازده نهایی DNA استخراج شده 5–15 µg با کیفیت A260/280 ratio=1.8–1.9 می‌باشد.
- به طور کلی افزایش زمان انکوباسیون با بافر EB، بیشتر از 5 دقیقه قبل از سانتریفیوژ کردن می‌تواند باعث افزایش میزان استخراج DNA شود.
- انکوبه کردن ستون با درب بسته در دمای 60°C افزایش راندمان استخراج DNA را به همراه خواهد داشت.
- اگر مرحله الوشن با بافر EB رد شده از ستون برای بار دوم تکرار شود، 20–50% میزان استخراج DNA را افزایش خواهد داد.

DNA استخراج شده را در دمای 20°C– ذخیره نمایید.

فرایند (باکتری گرم مثبت)

1. به رسوب باکتریایی میزان 500 µL بافر Lyso Buffer و 20 µL آنزیم لیزوزیم 50 mg/ml اضافه کنید. و به مدت 20 ثانیه Pulse-vortex نمایید تا کاملاً مخلوط شوند.
2. محلول را حداقل به مدت 1 ساعت در دمای 37°C انکوبه نمایید. در طول زمان انکوباسیون میکروتیوب را چندین مرتبه در فواصل زمانی مختلف ورتکس نمایید.

3. محلول را به مدت 3 دقیقه در دور 13000 rpm سانتریفیوژ کنید و سپس مایع رویی را خارج کنید.
4. در ادامه مطابق پروتکل استخراج DNA از باکتری گرم منفی، از مرحله 1 عمل نمایید.

چالش‌ها و راه کارها

مشاهدات	دلایل محتمل	راه کارها
غلظت پایین DNA استخراج شده	کافی نبودن نمونه	• با مقدار بیشتر نمونه تست را دوباره تکرار کنید. • بافر الوشن حتما باید به مرکز غشاء ستون اضافه شود. • زمان انکوباسیون الوشن را بیشتر کنید. • انکوباسیون با بافر الوشن را در دمای 60 °C انجام دهید.
	لایز نامناسب نمونه	• زمان انکوباسیون را رعایت کنید. • برای افزایش بازده، نمونه را به وسیله ورتکس به طور کامل با بافر لایز مخلوط نمایید. • اگر نمونه به خوبی لایز نشده است زمان انکوباسیون با بافر BT را افزایش دهید و یا بصورت Overnight انکوبه نمایید.
	محلول لایز شده به طور کامل از ستون عبور نکرده است.	• زمان سانتریفیوژ کردن را افزایش دهید. • حداکثر سرعت سانتریفیوژ را اعمال کنید. • مقدار زیادی از نمونه استفاده کرده اید. • قبل از منتقل کردن محلول لایز شده به ستون، آن را با حداکثر سرعت سانتریفیوژ کنید و از انتقال رسوب آن به ستون خودداری نمایید.
	عملکرد نامناسب آنزیم پروتئیناز K	• مجدداً مراحل آماده‌سازی آنزیم پروتئیناز K را انجام دهید و استخراج DNA را با نمونه جدید تکرار کنید. • آنزیم پروتئیناز K پس از آماده‌سازی باید در دمای 20°C– نگهداری شود.

		• آنزیم پروتئیناز K را مستقیماً به بافر لایز اضافه نکنید. • پس از اضافه کردن پروتئیناز K به نمونه فوراً آن را پیپتاژ کنید.
	استفاده از ایزوپروپانول به جای اتانول	• استفاده از سایر الکل‌ها به جای اتانول توصیه نمی‌شود.
	مسدود شدن غشاء ستون	• در صورت تشکیل رسوب در بافرها، نباید از آنها استفاده کرد. • قبل از شروع فرآیند بافرها را به دمای اتاق برسانید. • از نمونه اولیه بیشتر از مقدار توصیه شده استفاده نکنید. • قبل از منتقل کردن محلول لایز شده به ستون، آن را با حداکثر سرعت سانتریفیوژ کنید و از انتقال رسوب آن به ستون خودداری نمایید.
پایین بودن نسبت A260/A280	آلودگی پروتئینی	• برای اطمینان از عملکرد صحیح بافرها، قبل از شروع فرآیند، بافرها را به دمای اتاق برسانید. • از اتانول با درصد خلوص پایین استفاده نکنید. • از مخلوط شدن نمونه ها با بافر Binding،BT و اتانول اطمینان حاصل نمایید. • برای جلوگیری از انتقال بافر WB2 به مرحله الوشن از ستون، انجام مرحله خشک کردن مطابق فرآیند مربوطه توصیه می شود. • از عدم تماس غشای ستون با مایع عبوری در کالکشن تیوب، قبل از مرحله الوشن اطمینان حاصل کنید. • بافرهای شستشو را به ترتیب ذکر شده در فرآیند استفاده نمایید. • کاهش عملکرد آنزیم پروتئیناز K به دلیل عدم رعایت شرایط نگهداری آنزیم. • به یاد داشته باشید آنزیم پروتئیناز K بعد از آماده سازی باید در 20°C- نگهداری شود.

پایین بودن نسبت A260/A230	آلودگی نمکی	• در حین فرآیند ستون‌ها را به آرامی جا به جا کنید. • درب ستون‌ها را به آرامی باز و بسته نمایید. • از انتقال حباب‌های تشکیل شده در مرحله لایز به ستون خودداری نمایید. • از تماس نوک سرسمپلر با بدنه ستون خودداری نمایید.
	آلودگی فضای آزمایش	• بعد از اتمام هر آزمایش، هود آزمایش و تمام دستگاه های استفاده شده را با bleach 10% ضدعفونی کنید. • محیط آزمایش حتما دارای فیلتراسیون مناسب و کافی باشد.
قطعه قطعه شدن DNA	ورتکس پیاپی	• ورتکس را در مرحله مخلوط کردن نمونه با binding buffer، به حداقل رسانده و برای مخلوط کردن تیوب را 10 بار به آرامی سر و ته نمایید. • از نمونه نگهداری شده با مدت زمان زیاد استفاده نکنید.

کنترل کیفیت

تمام اجزاء و سری ساخت‌های (.LOT NO) هر کیت در واحد کنترل کیفیت شرکت ویستا زیست فناوری به‌ژن بر اساس معیارهای مدون از پیش تعیین شده، جهت اطمینان از صحت محصول مورد ارزیابی قرارگرفته‌است.

تاریخچه ویرایش پروتکل

شماره ویرایش	توضیحات	تاریخ
00	نسخه جدید	
01	افزایش حجم WB1	1404/07
02	تغییرات در استخراج از محیط کشت خون و خون محیطی	1404/08

مفهوم	نماد	مفهوم	نماد
محدودیت دمایی	+27 +16	کاربرد تشخیصی	IVD
تعداد تست	Σ	اطلاعات کارخانه	
تاریخ انقضا		تاریخ تولید	
مخاطرات زیستی		از تابش نور دور نگه داشته شود	
حاوی دستور العمل استفاده از محصول		احتیاط	
کد کالا	REF	شماره سری ساخت	LOT

شـرکت دانـش بنیـان ویسـتا زیسـت فنـاوری بـه ژن

آدرس: شـیراز، منطقـه ویـژه اقتصادی،فـاز دوم، جنـب میـدان صـادرات

شـماره تمـاس: 09053633840 شـماره پشـتیبانی فنـی: 09170093664

کدپسـتی: 7159115468 وبسـایت: www.BehGene.com