کیت استخراج DNA ژنومی (۱۰۰)

(از خون)

مورد استفاده:

این کیت قادر به استخراج DNA ژنومی با خلوص بالا از نمونه های حاوی EDTA، مایعات انسانی و حیوانی می باشد.

اساس و ویژگی ها:

این کیت استخراج بر پایه ستون سیلیکا می باشد. بافر لایز این کیت محتوی دترجنت ، گواندین ایزوتیوسیانات و بافر می باشد. محلول های مرحله شستشوی این کیت حاوی گوانیدین هیدروکلراید و بافر می باشد. DNA استخراج شده می تواند برای اهداف مختلف از جمله هیبریداسیون معکوس و انواع روش های مبتنی بر PCR استفاده شود.

محتوای کیت:

محتویات	مقدار	شرایط نگهداری
Lysis Buffer (LB)	22 ml	دمای اتاق ۱۵-۲۵°C
Proteinase K (pk)	1.2x2ml	
Binding Buffer (BB)	30 ml	
Wash Buffer1 (WB1)	40 ml	
Wash Buffer2 (WB2)	15x2 ml	
Elution Buffer (EB)	30 ml	
Column	50x2	
Collection tube	100x2	

شرایط نگهداری:

این کیت در دمای اتاق و دور از تابش مستقیم نور آفتاب به مدت دو سال پایدار می باشد.

مواد و دستگاه های مورد نیاز:

Adjustable Volume Pipette
Biosafety cabinet
Vortex spin
Nuclease free free filter tips
Desktop micro centrifuge (14,000 x g)
RNAse free sterile micro tube
Biohazard waste container
Absolut ethanol
Single-use glove

Genomic DNA Extraction Kit (100)

(From Blood)

هشدار و اقدامات احتیاطی:

- این دستورالعمل برای پرسنل آموزش دیده برای انجام آزمایشات مولکولی تدوین شده است. لطفاً قبل از شروع کار دستورالعمل با دقت خوانده شود.
- نمونه ها باید به عنوان مواد عفونی بالقوه در نظر گرفته شوند و در زیر هود لامینار آماده سازی شوند.
- به تاریخ انقضا کیت توجه شود.
- همیشه از نوک سمپلر فیلتر دار استفاده شود.

احتیاط: محلول های سفید کننده یا اسیدی را مستقیماً به پسماندهای آماده سازی نمونه اضافه نکنید.

بافر LB و WB1

حاوی: هیدروکلراید/ ایزوتیوسیانات گوانیدین.

هشدار! در صورت بلعیدن یا استنشاق ممکن است مضر باشد. باعث تحریک پوست و سوزش جدی چشم می شود و ممکن است باعث یک واکنش حساسیت پوستی شود. در صورت ادامه تحریک چشم، توصیه پزشکی را اعمال کنید. قبل از استفاده مجدد ، لباسهای آلوده را درآورید و بشویید. از دستکش محافظ / لباس محافظ / محافظ چشم / محافظ صورت استفاده کنید.

جمع آوری، نگهداری و حمل و نقل نمونه:

- نمونه های عفونی در محیط و ظرف انتقال مخصوص به آزمایشگاه منتقل شده و کار با ملاحظات ایمنی زیستی انجام شود.
- نمونه ها می توانند بلافاصله استخراج شوند یا در دمای محیط، یخچال یا ۲۰- درجه نگهداری شوند.

آماده سازی محلول ها قبل از شروع کار:

۲۷ میلی لیتر اتانول به WB1 اضافه شود.
۶۵ میلی لیتر اتانول به WB2 اضافه شود.

روش کار:

- جهت استخراج نمونه خون، ویال CBC را توسط میکسر هماتولوژی یا با چندین بار سر و ته کردن، به خوبی مخلوط نمایید.

- در مواردی که نمونه مایعات بدن رقیق می باشد و تعداد سلول بسیار کم است،به مقدار ۱،۵ میلی لیتر از حجم نمونه را برداشته و پس از سانتریفیوژ در ۱۳۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه، محلول رویی را دور ریخته و به رسوب حاصله ۲۰۰ لاندا آب مقطر اضافه کرده و جهت استخراج استفاده می کنیم.

- جهت نمونه های خون خشک شده بر روی کاغذ صافی، ابتدا کاغذ نمونه را داخل تیوب ۱-۵ میلی لیتری حاوی ۲۵۰ لاندا سرم فیزیولوژیک (NaCl 0.9%) قرار داده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار می دهیم در ادامه به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس کرده، کاغذ صافی را خارج کرده و از محلول داخل تیوب جهت استخراج استفاده می کنیم.

۱- ۲۰۰ میکرولیتر محلول لایز را داخل تیوب ۱/۵ میلی لیتری محتوی ۲۰۰ میکرولیتر نمونه بیمار (آماده شده طبق دستورالعمل بالا) اضافه نمایید. در ادامه ۲۰ میکرولیتر پروتیناز K اضافه کرده و به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.

۲- ۲۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه قرار داده، سپس به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.

۳- ۲۵۰ میکرولیتر بافر BB به مخلوط لایز و نمونه اضافه کرده، به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.

۴- ۶۲۰ میکرولیتر محتوی تیوب لایز را به داخل ستون قرار گرفته در تیوب جمع آوری ، انتقال داده و به مدت ۱ دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ نمایید.

●در مواردیکه به دلیل کهنه بودن نمونه خون، محلول لایز پس از سانتریفیوژ به طور کامل از ستون رد نشده باشد، مجددا تیوپ را در ۱۳۰۰۰ دور به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ نمایید.

۵- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به آن ۶۰۰ میکرولیتر بافر WB1 را اضافه نموده و به مدت ۱دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ نمایید.

●در این مرحله لایه کاغذی ستون می بایست عاری از بقایای هموگلوبین شده باشد، در مواردیکه به هر دلیلی هنوز لایه کاغذی قهوه ای رنگ به نظر می رسد، مرحله ۵ را تکرار کنید.

۶- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به آن ۶۰۰ میکرولیتر بافر WB2 را اضافه نموده و به مدت ۱دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ نمایید.

۷- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به آن ۶۵۰ میکرولیتر بافر WB2 را اضافه نموده و مدت ۱ دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰، سانتریفیوژ نمایید.

۸- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به مدت ۱ دقیقه در حداکثر دور، سانتریفیوژ نمایید.

۹- ستون را داخل تیوب ۱/۵ میلی لیتر قرار داده و به آن ۱۰۰ میکرولیتر بافر EB اضافه نموده و یک دقیقه در دمای اتاق قرار دهید. در ادامه به مدت ۱ دقیقه در حداکثر دور، سانتریفیوژ نمایید.

●حجم الوشن بافر براساس نیاز از ۳۰ تا ۲۰۰ میکرولیتر قابل تغییر است.

۱۰- محلول حاصله برای تمامی واکنش های مولکولی قابل استفاده بوده و در صورت انجام آزمایش در آینده، در دمای ۷۰- نگهداری گردد.

کنترل کیفیت

مطابق با سیستم مدیریت کیفیت جامع هلدینگ سدار ، هر سری کیت استخراج Cedbio بر اساس استانداردهای تعیین شده، جهت اطمینان از تولید محصول با کیفیت ، مورد بررسی دقیق آزمایشگاهی با نمونه های کنترل و مقایسه با کیت های تراز اول جهانی قرار می‌گیرد.

تصویر علائم هشدار و نگهداری:

هشدار / خطر بالقوه

احتیاط / حساسیت‌زا و التهاب آور