

Nucleic Acid Extraction Kits

For Extraction of total DNA

قبل از شروع به استفاده از کیت، حتما دفترچه راهنما را به دقت مطالعه کنید



50 Reaction

Manual: Version: NMG-01

<https://novinmedco.com/>

En-A-Dr-Y

تهران، میدان جمهوری، برج شهاب 1، طبقه 5، واحد 156 شماره تماس 02166381160

Novin Mana gene / Genomic DNA KIT

کیت استخراج DNA ژنومیک برای جدا سازی DNA ژنومی از خون تام، بافی کوت، نمونه های سیتولوژی بر پایه لیکوئید، بافت تازه، بال (محتویات شستشوی ریه)، خلط، کشت سلول بکار میرود.

شرایط نگهداری:

1- کیت استخراج ژنومی نوین مانا زن در دمای اتاق نگهداری میشود.

2- پروتئیناز K، در دمای -20°C ماندگار میباشد.

وسایل مورد نیاز:

1- میکروسانتریفیوژ

2- ورتکس

3- هیتر بلاک

4- سمپلر: $10-100\ \mu\text{l}$ and $100-1000\ \mu\text{l}$

5- میکروتیوب $1.5\ \text{ml}$

روش انجام کیت ، برای استخراج DNA ژنومیک:

1- ابتدا $300\ \mu\text{l}$ از نمونه را داخل میکروتیوب $1.5\ \text{ml}$ بریزید. (درماینات کم سلول و نمونه های سیتولوژی بر پایه لیکوئید ابتدا $1.5\ \text{ml}$ سی سی از نمونه را برداشته و با دور $13000\ \text{rpm}$ به مدت 1 دقیقه سانتیفریوژ کرده و سپس مایع رویی را خالی، و روی پلت بدست آمده استخراج را انجام دهید).

2- سپس $300\ \mu\text{l}$ MB-Lysis، را به نمونه اضافه کنید.

3- $10\ \mu\text{l}$ پروتئیناز k به آن اضافه و به مدت 10-20 ثانیه به خوبی ورتکس کرده و به مدت 20 دقیقه در هیتر بلاک 60°C درجه سانتیگراد قرار دهید (اگر بافت یا نمونه سخت بود به مدت 1-24 ساعت انکوباسیون را ادامه دهید تا کاملاً بافت و نمونه سخت هضم شود).

4- $300\ \mu\text{l}$ MB-Binding، به نمونه اضافه و 15 ثانیه به خوبی ورتکس نمایید، سپس محتویات را به داخل MB-Spine column انتقال داده و با دور $13000\ \text{rpm}$ به مدت 1 دقیقه سانتیفریوژ کرده و بعد از آن کالکشن تیوب حاوی مایعات جمع شده را تعویض و ستون را روی کالکشن تیوب نو قرار دهید.

5- $500\ \mu\text{l}$ MB-Wash I، به ستون MB-Spin column اضافه، با دور $13000\ \text{rpm}$ به مدت 30 ثانیه سانتیفریوژ کرده، سپس محتویات MB-collection tube را خالی کرده و مجدداً MB-Spin column را روی آن قرار دهید.

6- $500\ \mu\text{l}$ MB-Wash II، به ستون MB-Spin column اضافه، با دور $13000\ \text{rpm}$ به مدت 30 ثانیه سانتیفریوژ کرده، سپس محتویات MB-collection tube خالی کرده و مجدداً MB-Spin column را روی آن قرار دهید. (این مرحله 2 بار انجام میگردد)

7- برای خشک شدن MB-Spin column، ستون را با بالاترین سرعت ($13000\ \text{rpm}-14000\ \text{rpm}$) به مدت 1 دقیقه سانتیفریوژ کرده، سپس MB-Collection tube را out کرده و MB-Spin column را داخل میکروتیوب $1.5\ \text{ml}$ استریل فاقد DNase (اتوکلاو شده) قرار دهید.

8- $60-150\ \mu\text{l}$ (بسته به مقدار مورد نیاز) MB-Elution روی سطح سفیدسیلیکونی MB-Spin column ریخته و آن را به مدت 10 دقیقه در دمای اتاق یا روی هیتر بلاک 60°C درجه سانتی گراد قرار دهید.

9- میکروتیوب حاوی MB-Spin column را به مدت 1 دقیقه با دور $13000\ \text{rpm}$ سانتیفریوژ کرده تا اسید نوکلئیک از روی غشا سیلیکونی شسته شود و وارد میکروتیوب $1.5\ \text{ml}$ گردد.

10- جهت نگهداری DNA Genomic استخراج شده آن را در دمای -20°C قرار دهید.



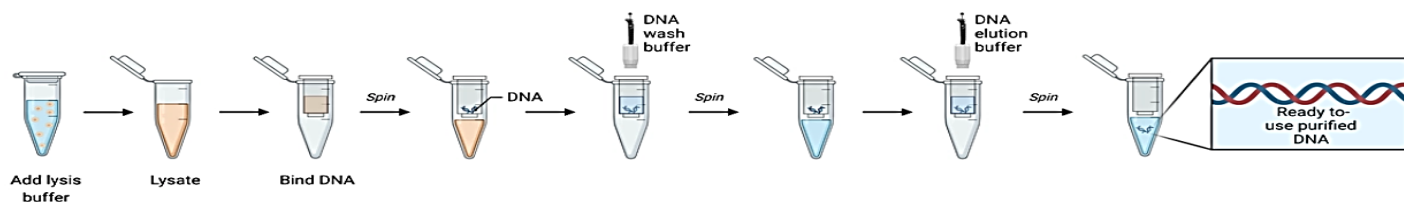
50 Reaction

Manual: Version: NMG-01

<https://novinmedco.com/>

En-A-Dr-Y

Cat No: NMG-EXT-01



توضیحات:

کیت نوین ماناژن برای استخراج نمونه های مختلف استفاده میشود و با بکارگیری مواد اولیه مرغوب در این کیت، توانسته نتایج قابل قبول از نظر غلظت و OD ($A_{260}/280$ 1.8-2.2 و $A_{260}/230$ 1.8-2.2) بدست آورد که براحتی برای فرایند های پایین دستی PCR و Real Time PCR مناسب میباشد. به طور مثال غلظت بدست آمده برای 300 لاندا خون تام، مابین 30-80 ng/ μ l (30-80 μ g/ml) اگر در 50 ماکرولیتر محلول EB حل شود، پیش بینی میگردد که برای فرایند های پایین دستی مناسب میباشد.

توجه:

- 1: درمایعات کم سلول و نمونه های سیتولوژی بر پایه لیکوئید ابتدا 1.5 سی سی از نمونه را برداشته و آن را سانتریفیوژ کرده و بعد از آن مایع رویی را خالی، و روی پلت بدست آمده استخراج را انجام دهید.
- 2: در صورت روبرو شدن با نمونه های دارای ویسکوزیته خیلی بالا مانند نمونه خلط و بال، ابتدا نمونه را توسط سرم فیزیولوژی یا اب مقطر استریل به مقدار مناسب رقیق کرده و سپس از آن برداشت نمایید.
- 3: در صورت استخراج DNA ژنومی از خون، لوله CBC را قبل از برداشت نمونه به آرامی تکان داده و همگن نمایید سپس نمونه را بردارید.
- 4: در صورت استخراج DNA از بافی کوت، ابتدا لوله CBC را به مدت 15 دقیقه با دور 1600 rpm سانتریفیوژ کرده تا بافی کوت تشکیل شود سپس آن را جدا و استخراج نمایید. بدلیل بافی کوت بودن نمونه (حجم بالای سلول های هسته دار)، زمان انکباسیون را به 2 ساعت افزایش دهید و در حین انکباسیون 2 بار آن را ورتکس نمایید.
- 5: در صورت استخراج DNA از بافت تازه، زمان انکباسیون را به 2 ساعت افزایش داده تا هضم شدن غشا سلولی به طور کامل صورت گیرد و ژنوم آنها آزاد گردد.

نکات:

- 1- همواره برای تعیین غلظت و خلوص DNA بدست آمده از نانودراپ استفاده نمایید. (برای بلانک کردن از MB-Elution استفاده نمایید)
- 2- در صورت نداشتن نانودراپ در آزمایشگاه و استفاده از کیت نوین مانا ژن برای نمونه های سیتولوژی بر پایه لیکوئید که عموماً برای تست HPV genotyping استفاده میشود، مقدار 5 μ l نمونه DNA به نسبت حجم کل واکنش (20 μ l) اضافه کنید (اگر حجم MB-Elution استفاده شده 60-100 μ l است).
- 3- در صورت نداشتن نانودراپ در آزمایشگاه و استفاده از کیت نوین مانا ژن برای نمونه های خون، مقدار 1-2 μ l DNA، به نسبت حجم کل واکنش (20 μ l)، اضافه کنید (اگر حجم MB-Elution استفاده شده 60-100 μ l است).
- 4- در صورت نداشتن نانودراپ در آزمایشگاه و استفاده از کیت نوین مانا ژن برای سایر نمونه ها، مقدار 3-5 μ l DNA، به نسبت حجم کل واکنش (20 μ l)، اضافه کنید (اگر حجم MB-Elution استفاده شده 60-100 μ l است).



50 Reaction

Manual: Version: NMG-01

<https://novinmedco.com/>

En-A-Dr-Y

عیب یابی:

مسئله	دلایل احتمالی	راه حل
غلظت و خلوص پایین DNA	1- محلول لایز کننده و سمپل به خوبی با هم مخلوط نشده باشد. 2- نمونه نامناسب باشد. 3- فریز و دفریز کردن متناوب نمونه 4- محلول ها در شرایط بد نگهداری شوند 5- MB-spin column توسط محلول های wash به خوبی شسته نشود.	1- محلول لایز و نمونه به خوبی ورتکس گردد. 2- نمونه گیری مجدد انجام شود. 3- اجتناب از فریز و دفریز کردن متناوب نمونه ها 4- محلول های کیت در دمای 25°C (دمای اتاق) و PK در دمای 20°C - نگهداری شوند 5- از ابتدا نمونه را استخراج، و مطمئن شوید شستشو با محلول های wash/II به خوبی انجام می گیرد.
باقی ماندن ذرات و لخته خون روی غشا Spin column	1- محلول لایز به خوبی عمل نکرده باشد (حل نشدن بافر لایز و PK با نمونه) 2- نمونه قدیمی باشد یا نمونه خون دارای لخته باشد.	1- محلول لایز و نمونه به خوبی ورتکس گردند و در صورت نیاز به PK، و محلول لایز بیشتر، به نمونه اضافه شود. 2- نمونه گیری مجدد انجام شود.
مسدود شدن spin column	چگالی و غلظت نمونه بالا باشد (مانند نمونه خلط یا بال غلیظ)	نمونه اولیه را کمتر برداشته یا با آب مقطر یا سرم فیزیولوژی استریل به اندازه مورد نیاز، ابتدا رقیق کرده و سپس 300 لاندرا بردارید.
خورد شدن DNA استخراج شده	نمونه قدیمی باشد.	نمونه گیری مجدد انجام شود.



50 Reaction

Manual: Version: NMG-01

<https://novinmedco.com/>

En-A-Dr-Y