AMINBIC
Advanced Materials Innovation

راهنمای کاربردی

کیت استخراج مغناطیسی DNA ژنومیک

MagBic ™ Genomic DNA Extraction Kit

ویرایش ۱

AMINBIC Co. Ltd.
402, Third Floor, Institute of Electrochemistry, University of Tehran (Physical Education), North Campus, Tehran.
Technical Support: extraction@aminbic.ir
Contact Mail: info@aminbic.ir
Web: www.aminbic.ir
Tel. +989365650563

فهرست

محتویات کیت ۱
شرایط نگهداری محتویات کیت ۱
مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج دستی ۱
مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج اتوماتیک و نیمه اتوماتیک ۱
مزایای استفاده از کیت ستونی استخراج DNA ژنومیک ۲
نکات عمومی مهم ۲
آماده‌سازی مواد و محلول‌های مورد نیاز ۲
ویژگی‌ها ۳
مراحل استخراج DNA به روش دستی ۳
مراحل استخراج همزمان چند نمونه DNA در پلیت ۹۶ خانه به روش اتوماتیک و نیمه اتوماتیک ۴
مراحل استخراج همزمان چند نمونه به صورت اتوماتیک ۵
رفع مشکلات احتمالی ۵
محدودیت‌های بکارگیری محصول ۶
اطلاعات ایمنی و شناسایی خطرات ۶
اطلاعات مربوط به هر ترکیب/ماده ۶
اقدامات کمک‌های اولیه ۷
اقدامات احتیاطی شخصی ۷
اقدامات احتیاطی محیطی ۷
کنترل کیفیت ۷
نشانه‌ها ۸
پشتیبانی فنی ۸
دفتر مرکزی ۸

محتویات کیت

محتویات	شماره کاتالوگ	مقدار (میلی لیتر)	شرایط نگهداری
بطری حاوی بافر لیز و اتصال (GDLB)	B119100	۵۰	دمای اتاق
بطری حاوی بافر شستشو (GDW)	W114100	۵۰	دمای اتاق
بطری حاوی بافر شستشو دوم (GDWI)	W115100	۲ x ۵۰	دمای اتاق
بطری حاوی بافر رهاساز (GDE)	E116100	۱۰	دمای اتاق
نانوذرات مغناطیسی (GDM)	M127005	۴.۵	دمای اتاق

شرایط نگهداری محتویات کیت

شرایط ارسال توسط شرکت روناش تکنولوژی پارس چک می‌شود. پس از دریافت محصول، همه بافرها در جای خشک و خنک نگهداری شود.

پس از هر بار استفاده درب بطری‌ها را محکم ببندید تا از تبخیر و تغییر غلظت محلول‌ها جلوگیری شود.

در صورت رعایت شرایط نگهداری ذکر شده، کیت تا پایان تاریخ انقضا ذکر شده ماندگار است. برای اطلاع از شماره سری ساخت و تاریخ انقضای کیت به برچسب روی جعبه کیت توجه شود.

مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج دستی

- اتانول (٪۷۰)
- سمپلر
- سرسمپلرهای فیلتردار سترون (استریل) عاری از نوکلئازها
- میکروتیوب‌های ۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتری سترون
- دستکش
- ورتکس
- آون
- ماژیک
- رک مغناطیسی

مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج اتوماتیک و نیمه اتوماتیک

- اتانول (٪۷۰)
- سمپلر
- سرسمپلرهای فیلتردار سترون (استریل) عاری از نوکلئازها

- میکروتیوب‌های ۵۰۰ میکرولیتری سترون
- دستکش
- پلیت۹۶ خانه
- استریپ (شانه)
- برچسب آلومینیومی
- ماژیک

مزایای استفاده از کیت استخراج مغناطیسی DNA ژنومیک

- استخراج DNA با کیفیت بالا
- افزایش سرعت و کاهش زمان برای هر استخراج
- مناسب برای افراد کم تجربه

نکات عمومی مهم

- بافرهای استخراج حاوی نمک‌های کائوتروپیک هستند، از ریختن آن‌ها در محلول‌های ضدعفونی کننده حاوی سفید کننده خودداری شود.
- به منظور پیشگیری از آلودگی به ویروس از وسایل و لباس حفاظتی مناسب استفاده کرده و کلیه نمونه‌ها بالقوه مثبت و بیماری‌زا در نظر گرفته شود.
- برای جلوگیری از آلودگی محتویات کیت به نمونه‌های مورد نظر، بهتر است از سرسمپلرهای فیلتردار استفاده و پس از هر بار استفاده، سرسمپلر تعویض شود.
- همواره قبل و بعد از انجام آزمایش سطح زیر هود/ میز را با پنبه آغشته به الکل ۷۰ ٪ کاملا تمیز کرده، سپس به مدت ۲۰ دقیقه تحت پرتو فرابنفش قرار گیرد.
- نمونه‌های مثبت از محلول‌ها و محتویات کیت جدا نگهداری شود.

آماده‌سازی مواد و محلول‌های مورد نیاز

- آون روشن کرده تا دمای آن برروی ۵۶ $^{\circ}C$ ثابت شود.
- محلول بید مغناطیسی را قبل از استفاده خوب ورتکس نمایید.
- به منظور دورریز نمونه‌ها و سرسمپلرها، یک محلول ضدعفونی کننده حاوی سفید کننده (وایتکس) را با نسبت ۱/۴ رقیق کرده و زیر هود قرار داده شود.

ویژگی‌ها

اطلاعات	توضیحات
نوع تکنولوژی	تکنولوژی بیدهای مغناطیسی
منبع نمونه	خون، مایعات بدن، سرم، پلاسما و ...
مقدار نمونه اولیه	۲۰۰ میکرولیتر
شیوه کار	دستی
بیومولکول استخراج شده	DNA
غلظت استخراج شده	متفاوت بر اساس نمونه ورودی

مراحل استخراج DNA به روش دستی

برای استخراج DNA از ۲۰۰ میکرولیتر نمونه، مراحل زیر به ترتیب انجام شود:

۱. میزان ۲۰۰ µl از نمونه، ۵۰۰ µl از GDLB و ۳۰ µl از GDM را به هر ویال اضافه کنید.

- دقت داشته باشید که قبل از اضافه کردن بید مغناطیسی (GDM) به ویال محلول آن را خوب بهم بزنید و این عمل را برای ویال بعدی نیز تکرار کنید.
- برای سرعت بیشتر فرآیند کار می‌توانید به میزان متناسب با تعداد نمونه ابتدا مستر میکس مواد را آماده کنید.

۲. در ویال‌ها را بسته و به مدت ۱ دقیقه ورتکس کنید.

۳. ویال‌ها را به مدت ۱۲ دقیقه با دمای ۶۵ °C انکوبه کنید (هر ۴ دقیقه یکبار ویال‌ها را ورتکس نمایید).

۴. ویال‌ها را خارج کرده و به مدت ۱ دقیقه ورتکس نمایید. سپس داخل رک مغناطیسی چیده و پس از چند ثانیه محلول لیز شده را جدا کرده و دور بریزید.

۵. مقدار ۵۰۰ µl از محلول GDW به هر یک از ویال‌های حاوی بید مغناطیسی جداسازی شده اضافه کنید و به مدت ۳ دقیقه ورتکس نمایید.

۶. ویال‌ها را دوباره در داخل رک مغناطیسی قرار داده و پس از چند ثانیه محلول شستشوی جدا شده از بید را دور بریزید.

۷. مقدار ۵۰۰ µl از محلول GDWI به هر یک از ویال‌های حاوی بید مغناطیسی جداسازی شده اضافه کنید و به مدت ۲ دقیقه ورتکس نمایید.

۸. ویال‌ها را دوباره در داخل رک مغناطیسی قرار داده و پس از چند ثانیه محلول شستشوی جدا شده از بید را دور بریزید.

۹. مراحل ۷ و ۸ را تکرار کنید .

۱۰. تمام ویال‌ها را به مدت ۱-۲ دقیقه با دمای ۶۵ °C انکوبه کنید تا نمونه‌ها خشک شود (دقت فرمایید عمل خشک کردن بیش از حد انجام نشود.).

۱۱. به هر کدام از ویال‌ها مقدار ۱۰۰ µl از بافر GDE اضافه کرده و به خوبی به مدت ۱ دقیقه ورتکس نمایید. سپس با دمای ۸۰ °C به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه کنید (هر ۵ دقیقه یکبار ویال‌ها را ورتکس نمایید).

۱۲. ویال‌ها را دوباره در داخل رک مغناطیسی قرار داده و پس از چند ثانیه محلول GDE حاوی DNA را به ویال‌های دیگر منتقل نمایید.

۱۳. نمونه‌های DNA استخراج شده را برای استفاده کوتاه مدت در دمای ۴°C و برای استفاده بلند مدت در دمای ۲۰°C- نگهداری کنید.

مراحل استخراج همزمان چند نمونه DNA در پلیت ۹۶ خانه به روش اتوماتیک و نیمه اتوماتیک

بیدهای مغناطیسی را قبل از استفاده خوب ورتکس کرده و در هنگام اضافه کردن بیدهای مغناطیسی به هر نمونه به دیسپرس بودن مناسب آن دقت شود.

برای استخراج DNA از نمونه که به مقدار ۲۰۰ میکرولیتر می‌باشد؛ مواد به ترتیب موارد زیر اضافه شوند:

۱. ۳۰ میکرولیتر از GDM را به هر چاهک (پلیت لیز/اتصال) حاوی GDLB (۵۰۰ میکرولیتر GDLB در هر چاهک از قبل پر شده) اضافه، با استفاده از شانه محتویات هر چاهک را کاملا ترکیب کنید.
۲. میزان ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه (خون/پلاسما/ سرم/ VTM) را به هر چاهک پلیت لیز/اتصال اضافه کنید.
۳. شانه ۹۶ تایی را داخل پلیت قرار داده، با بالا و پایین کردن آن به مدت ۳۰ ثانیه محتویات پلیت لیز/ اتصال را مخلوط کنید.
۴. پلیت لیز/ اتصال را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۶ ˚C انکوبه کنید.
۵. با استفاده از شانه به مدت ۱ دقیقه محتویات پلیت لیز/ اتصال را بهم بزنید.
۶. سپس شانه را بالا آورده، یک هد مغناطیسی ۹۶ شاخه‌ای را داخل شانه کنید و مجموع شانه و هد مغناطیسی را به آرامی داخل پلیت لیز/ اتصال وارد تا بیدهای مغناطیسی طی این فرایند توسط مجموع شانه و هد مغناطیسی جمع‌آوری شوند.
۷. بیدهای مغناطیسی جمع آوری شده توسط مجموع شانه و هد مغناطیسی را از پلیت لیز/ اتصال به پلیت حاوی GDW (پلیت شست و شو که هر چاهک حاوی۵۰۰ میکرولیتر GDW از قبل پرشده است) انتقال دهید و در ادامه هد مغناطیسی را از داخل شانه خارج و با بالا و پایین کردن شانه ۹۶ تایی بیدهای مغناطیسی را در محلول GDW، به مدت ۳ دقیقه شستشو دهید (توجه کنید که بیدهای مغناطیسی را بیش‌تر از ۳ دقیقه در بافر شستشو نگهداری نکنید).
۸. سپس شانه را بالا آورده، یک هد مغناطیسی ۹۶ شاخه‌ای را داخل شانه کنید و مجموع شانه و هد مغناطیسی را به آرامی داخل پلیت لیز/ اتصال وارد تا بیدهای مغناطیسی طی این فرایند توسط مجموع شانه و هد مغناطیسی جمع‌آوری شوند.
۹. بیدهای مغناطیسی جمع آوری شده توسط مجموع شانه و هد مغناطیسی را از پلیت لیز/ اتصال به پلیت حاوی GDWI (پلیت شست و شو که هر چاهک حاوی۵۰۰ میکرولیتر GDWI از قبل پرشده است) انتقال دهید و در ادامه هد مغناطیسی را از داخل شانه خارج و با بالا و پایین کردن شانه ۹۶ تایی بیدهای مغناطیسی را در محلول GDWI، به مدت ۲ دقیقه شستشو دهید (توجه کنید که بیدهای مغناطیسی را بیش‌تر از ۲ دقیقه در بافر شستشو نگهداری نکنید).
۱۰. مراحل ۸ و ۹ را تکرار نمایید.
۱۱. مشابه مرحله‌ی نهم بیدهای مغناطیسی را از پلیت شستشو خارج کرده و مجموع شانه و هد مغناطیسی را به مدت ۱ الی ۲ دقیقه در خارج از پلیت شستشو نگه دارید تا بیدهای مغناطیسی خشک شوند (خشک شدن بیدها را تا زمانی که بر روی بیدهای مغناطیسی جمع آوری شده ترک مشاهده شود، طولانی نکنید).
۱۲. با استفاده از مجموع شانه و هد مغناطیسی، بیدهای مغناطیسی را به پلیت حاوی محلول GDE (هر چاهک حاوی ۱۰۰ میکرولیتر GDE بوده که از قبل پر شده اند) انتقال داده و بعد از جداسازی هد مغناطیسی، با استفاده از شانه ۹۶ تایی به مدت ۱ دقیقه بیدهای مغناطیسی را در محلول GDE پخش کنید. سپس پلیت را به مدت ۲۰ دقیقه در ۸۰˚C انکوبه، و در آخر یک بار دیگر به مدت ۳۰ ثانیه با استفاده از شانه بیدهای مغناطیسی را در محلول GDE پخش کنید.

۱۳. بیدهای مغناطیسی در مرحله‌ی آخر توسط مجموع شانه و هد مغناطیسی از پلیت حاوی GDE خارج کرده و شانه ۹۶ تایی و بیدهای مغناطیسی متصل شده به آن را دور بیاندازید.
۱۴. محلول موجود در پلیت GDE حاوی DNA خالص شده را ابتدا توسط برچسب آلومینیومی پوشش داده و سپس در دمای ˚C ۲۰- نگهداری شود.

مراحل استخراج همزمان چند نمونه به صورت اتوماتیک

- در روش اتوماتیک، مراحل فوق توسط دستگاه انجام می شود.
- برای مشاهده نحوه استخراج به سایت شرکت به نشانی www.aminbic.ir مراجعه کنید و با تیم فنی در تماس باشید.

رفع مشکلات احتمالی

مشکل	دلیل احتمالی	رفع مشکل
کم بودن یا عدم وجود DNA در بافر رهاسازی	نگهداری نمونه ویروسی در شرایط دمایی نامناسب و یا ذوب و انجماد مکرر آن	اطمینان حاصل شود که نمونه DNA در شرایط دمایی مناسب حمل و نگهداری شده است. ترجیحا از نمونه تازه استفاده شود. ذوب و انجماد نمونه DNA موجب تجزیه DNA می‌شود. از نمونه‌ای که بیش از یک بار ذوب و سپس منجمد شده است، برای استخراج استفاده نشود.
	غلظت پایین ویروس در نمونه مورد استخراج	برای سواپ: نمونه گیری تکرار شود. برای سرم و پلاسما: حجم بیشتری از نمونه را تغلیظ کنید و مجددا استخراج را تکرار کنید.
	DNA به خوبی از بید مغناطیسی جدا نشده است.	برای افزایش کارایی رهاسازی، حتما پس از اضافه کردن بافر رهاسازی محلول را در دمای ˚C ۸۰ قرار داده و هر ۵ دقیقه یکبار به خوبی هم بزنید.
	رهاسازی با حجم زیاد بافر رهاسازی	برای DNA ، استفاده از مقادیر کم بافر رهاسازی (مثلا ۵۰ میکرولیتر) توصیه می‌شود. استفاده از حجم کمتر از ۵۰ میکرولیتر یا بیشتر از ۱۰۰ میکرولیتر بافر رهاسازی توصیه نمی‌شود.
	DNA تخریب شده است.	فرآوری و استخراج نمونه به سرعت انجام شود. در صورت نیاز، به نمونه DNase Inhibitor اضافه شود. دقت کنید که محلول‌ها و بافرها به آنزیم DNase آلوده نشوند و تا آنجا که ممکن است در محیط عاری از DNase کار شود.

DNA از کارایی مناسبی در واکنش‌های آنزیمی بعدی برخوردار نیست.	کم بودن یا عدم وجود DNA در بافر رهاسازی	به بخش " کم بودن یا عدم وجود DNA در بافر رهاسازی" مراجعه شود.
	وارد شدن بافر شستشو در مرحله رهاسازی نهایی به دلیل خشک نشدن خوب بید مغناطیسی	دقت داشته باشید که پس از شستشو با بافر GDWI و جدا کردن بید مغناطیسی، به منظور خشک شدن نمونه‌ها در دمای محیط ۵ دقیقه منتظر بمانید.
	کاهش حساسیت واکنش تکثیر (PCR)	DNA استخراج شده را در حجم‌های مختلف در واکنش تکثیر استفاده کنید تا مناسب‌ترین حجم را بیابید.
مشاهده رسوب در بافر GDLB	رسوب ممکن است به دلیل نگهداری در دمای پایین یا نگهداری طولانی مدت ایجاد شود.	بافر را در دمای ۵۶ °C قرار داده، و اطمینان حاصل شود که رسوب به طور کامل حل شده است.
موارد عمومی	آلودگی متقاطع بین نمونه‌ها	ممکن است ناشی از آلودگی بین نمونه‌ها یا آلوده شدن محتویات کیت باشد. مجددا استخراج را با نمونه جدید تکرار کنید و در صورت مرتفع نشدن مشکل، این کار را با کیت جدید تکرار کنید. در آماده‌سازی محلول‌های کیت و در استفاده از آن‌ها دقت کنید و هر بار نوک سمپلر را تعویض کنید.

محدودیت‌های بکارگیری محصول

از کیت‌های استخراج تاریخ گذشته استفاده نشود و حتما به تاریخ انقضای ثبت شده روی جعبه توجه شود.

اطلاعات ایمنی و شناسایی خطرات

به دلیل استفاده از ویروس بیماری‌زا به عنوان نمونه مورد آزمایش، باید تمام پروتکل‌های ایمنی و بهداشتی در رابطه با این ویروس رعایت شود.

اطلاعات مربوط به هر ترکیب/ماده

بافر لیز (GDLB)

- **مایع آتش زا:** مایع و بخارات آن آتش گیر هستند.
- **تحریک چشمی:** در صورت تماس با چشم سبب حساسیت شدید چشمی میشود.
- **تحریک پوستی:** در صورت تماس با پوست سبب تحریک و ایجاد حساسیت و خارش پوستی میشود.
- **سمی بودن:** مایع سمی بوده و خوردن آن سبب مصمومیت می گردد.

بافر شستشو (GDW/GDWI)

- **مایع آتش زا:** مایع و بخارات آن آتش گیر هستند.
- **تحریک چشمی:** در صورت تماس با چشم سبب حساسیت شدید چشمی/آسیب به چشم میشود.
- **تحریک پوستی:** در صورت تماس با پوست سبب تحریک و ایجاد حساسیت و خارش پوستی میشود.
- **سمی بودن:** مایع کاملا سمی بوده و خوردن آن سبب آسیب داخلی می گردد.

ذرات مغناطیسی (GDM)

- **ایجاد سمیت برای ارگان ها:** سبب ایجاد سمیت در دستگاه عصبی مرکزی میشود. سبب خواب آلودگی و سرگیجه میشود.

بافر رهاساز (GDE)

- هیچ گونه خطری شناسایی نشده است.

اقدامات کمک‌های اولیه

- **تماس با پوست:** بلافاصله با آب فراوان شسته شود.
- **استنشاق:** هوای تازه استشمام شود.
- **تماس چشمی:** بلافاصله با آب فراوان، همچنین زیر پلک‌ها شسته شود.
- **بلع:** دهان با آب فراوان شسته شود. به دکتر مراجعه و محتویات بلعیده شده از معده تخلیه گردد.

اقدامات احتیاطی شخصی

همیشه از وسایل حفاظت شخصی توصیه شده، استفاده کنید و از تهویه مناسب اطمینان حاصل کنید.

اقدامات احتیاطی محیطی

در صورت ریختن بافرها، از ورود محصول به فاضلاب جلوگیری شود. با اسفنج یا پارچه مرطوب یا مواد جاذب بی‌اثر پاک شود.
قبل از ریختن پسماند در فاضلاب، ابتدا بر روی تمام پسماند، مایع ظرفشویی ریخته و خوب مخلوط شود. پس از ۵ دقیقه شست و شو داده و پس از شست و شو با آب فراوان، جهت اطمینان کامل با مقداری وایتکس شسته و دورریخته شود.

کنترل کیفیت

هر سری ساخت کیت استخراج DNA برای اطمینان از ثابت بودن و یکنواختی کیفیت محصول، از جهت یک سری خصوصیات از پیش تعیین شده مورد آزمایش قرار می‌گیرد.

نشانه‌ها

تعداد تست‌ها در هر کیت	
شرایط نگهداری	
شناسه فرآورده	
سری ساخت	
تاریخ انقضا	
تاریخ تولید	
شرکت سازنده	
دستورالعمل	
استفاده در تست‌های تشخیصی In vitro	

پشتیبانی فنی

در صورت نیاز به پشتیبانی فنی لطفا با extraction@aminbic.ir یا شماره ۰۹۳۶۵۶۵۰۵۶۳ تماس بگیرید.

اگر کیفیت هر یک از خدمات/ محصولات ما مطابق درخواست شما نبود؛ با واحد پشتیبانی تماس بگیرید و یا فرم "اعلام عدم رضایت از کارکرد محصول" را در سایت شرکت به نشانی www.aminbic.ir بیابید، آن را تکمیل کرده و برای ما ارسال نمائید. شما می‌توانید با گرفتن شماره پیگیری مربوط، تا دریافت نتیجه نهایی، روند بررسی را پیگیری نمائید.

دفتر مرکزی

واحد تولید: تهران، خیابان کارگر شمالی، پردیس شمالی دانشگاه تهران، انستیتو الکتروشیمی، طبقه سوم، واحد ۴۰۲