AMINBIC
Advanced Materials Innovation

راهنمای کاربردی

کیت استخراج DNA ژنومیک

SilBic ™ Genomic DNA Extraction Kit (Column-based)

نسخه 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 ۱
شرایط نگهداری محتویات کیت ۱
مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج ۱
مزایای استفاده از کیت ستونی استخراج DNA ژنومیک ۲
نکات عمومی مهم ۲
آماده‌سازی مواد و محلول‌های مورد نیاز ۲
ویژگی‌ها ۲
مراحل استخراج DNA از خون کامل ۳
رفع مشکلات احتمالی ۳
محدودیت‌های بکارگیری محصول ۴
اطلاعات ایمنی و شناسایی خطرات ۵
خطرات ۵
اطلاعات مربوط به هر ترکیب/ماده ۵
اقدامات کمک‌های اولیه ۵
اقدامات احتیاطی شخصی ۵
اقدامات احتیاطی محیطی ۶
کنترل کیفیت ۶
نشانه‌ها ۶
پشتیبانی فنی ۶
دفتر مرکزی ۶

محتویات کیت

محتویات	شماره کاتالوگ	مقدار / تعداد	شرایط نگهداری
بطری حاوی بافر لیز (GDL)	L112050	۵۰ میلی‌لیتر	دمای اتاق
بطری حاوی بافر اتصال (GDB)	B113050	۵۰ میلی‌لیتر	دمای اتاق
بطری حاوی بافر شستشو ۱ (GDW)	W114050	۵۰ میلی‌لیتر	دمای اتاق
بطری حاوی بافر شستشو ۲ (GDWI)	W115050	۵۰ میلی‌لیتر	دمای اتاق
بطری حاوی بافر رهاساز (GDE)	E116010	۱۰ میلی‌لیتر	دمای اتاق
Spin Column	-	۱۰۰ عدد	دمای اتاق
Collection Tube	-	۱۰۰ عدد	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 توجه شود.

مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج

- اتانول (٪۷۰)
- سمپلر
- سرسمپلرهای فیلتردار سترون (استریل) عاری از نوکلئازها
- میکروتیوب‌های ۱.۵ میلی‌لیتر سترون
- دستکش
- ورتکس
- آون
- ماژیک

مزایای استفاده از کیت ستونی استخراج 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، 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 استخراج DNA جدا نگهداری شود.

آماده‌سازی مواد و محلول‌های مورد نیاز

- آون روشن کرده تا دمای آن برروی ۵۶ $^{\circ}C$ ثابت شود.
- 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 ستون‌های سیلیکایی
منبع نمونه	خون، مایعات بدن، سرم، پلاسما و ...
مقدار نمونه اولیه	تا ۱۵۰ میکرولیتر
شیوه کار	دستی
بیومولکول استخراج شده	DNA
غلظت استخراج شده	متفاوت بر اساس نمونه ورودی

مراحل استخراج DNA از خون کامل

۱. ۱۵۰ میکرولیتر از نمونه خون کامل را به ۵۰۰ میکرولیتر محلول GDL در یک میکروتیوب ۱.۵ میلی‌لیتری اضافه، و آن را به مدت ۱۵ ثانیه به خوبی ورتکس و سپس میکروتیوب‌ها را چند ثانیه اسپین شود.

۲. میکروتیوب ها را در دمای ^{o}C ۵۶ به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شود (برای نتایج بهتر هر ۵ دقیقه یک مرتبه ورتکس شود).

۳. ۵۰۰ میکرولیتر از محلول GDB را به میکروتیوب اضافه کرده و به مدت ۱۵ ثانیه به خوبی ورتکس، سپس میکروتیوب‌ها را چند ثانیه اسپین شود.

٤. نیمی از لیزات آماده شده را به آرامی و با دقت در مرکز ستون‌های استخراج که از قبل درون کالکشن تیوب‌ها قرار گرفته‌اند بریزید. به مدت ۱ دقیقه در سرعت ۱۳۰۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ، محلول عبور کرده از ستون را دور ریخته و ستون را در همان کالکشن تیوب ۲۰۰۰ میکرولیتری قبل قرار داده شود.

٥. مرحله قبل را با باقی مانده لیزات تکرار کرده تا همه لیزات از ستون عبور داده شود.

٦. ۵۰۰ میکرولیتر از بافر GDW1 را به ستون اضافه کنید و با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ، محلول عبور کرده از ستون را دور ریخته و ستون را در کالکشن تیوب ۲۰۰۰ مکیرولیتری قرار داده شود.

۷. ۵۰۰ میکرولیتر از بافر GDW2 را به ستون اضافه کنید و با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ، محلول عبور کرده از ستون را دور بریزید و ستون را در کالکشن تیوب ۲۰۰۰ مکیرولیتری قرار داده شود..

۸. ستون را به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه مجدد سانتریفیوژ کنید تا بافر باقیمانده از ستون خارج شود. سپس ستون را به میکروتیوب ۱.۵ میلی‌لیتری تمیز منتقل شود.

۹. ۱۰۰-۶۰ میکرولیتر از بافر GDE را به مرکز ستون اضافه، به مدت حداقل یک دقیقه در دمای اتاق قرار داده شود.

۱۰. DNA تخلیص شده را با سانتریفیوژ کردن با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه جدا کنید، محلول زیر ستون حاوی DNA است.

رفع مشکلات احتمالی

مشکل	دلیل احتمالی	رفع مشکل
کم بودن یا عدم وجود DNA در بافر رهاسازی	نگهداری نمونه DNA 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 در نمونه مورد استخراج	برای سواپ: نمونه گیری را تکرار شود. برای سرم و پلاسما: حجم بیشتری از نمونه را تغلیظ کنید و مجددا استخراج را تکرار شود.
	DNA به خوبی از ستون جدا نشده است.	برای افزایش کارایی رهاسازی، حتما پس از اضافه کردن بافر رهاسازی محلول را در دمای ۸۰ °C قرار داده و هر ۵ دقیقه یکبار به خوبی هم زده شود.
	رهاسازی با حجم زیاد بافر رهاسازی	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 را به سرعت انجام داده 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.
	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 GDL/GDB	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 شود. در آماده‌سازی محلول‌های کیت و در استفاده از آن‌ها دقت کنید و هر بار نوک سمپلر را تعویض شود.

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 نمونه بیماری‌زا به عنوان نمونه مورد آزمایش، باید تمام پروتکل‌های ایمنی و بهداشتی رعایت شود.

خطرات

تقسیم بندی مواد و ترکیبات

مواد و ترکیبات مختلفی در کیت و بافرها استفاده شده است. خطرات و موارد احتیاطی هر کدام در قسمت بعد بیان شده است.

اطلاعات مربوط به هر ترکیب/ماده

بافر لیز (GDL) و بافر اتصال (GDB)

- **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 ۱ (GDW) و بافر شستشو ۲ (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.

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 را شسته شود.
- بلع : دهان را با آب فراوان شسته شود.

اقدامات احتیاطی شخصی

همیشه از وسایل حفاظت شخصی توصیه شده، استفاده کنید. 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 شست‌شو داده و پس از شستشو 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	Σ
شرایط نگهداری	
شناسه فرآورده	REF
سری ساخت	LOT
تاریخ انقضا	
تاریخ تولید	
شرکت سازنده	
دستورالعمل استفاده در تست‌های تشخیصی In vitro	IVD

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