

# AMINBIC

Advanced Materials Innovation

راهنمای کاربردی

کیت استخراج مغناطیسی نوکلئیک اسید

**MagBic™ Nucleic Acid Extraction Kit**

نسخه ۱

## فهرست

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

## محتویات کیت

محتویات	شماره کاتالوگ	مقدار	شرایط نگهداری
بطری حاوی بافر لیز (NALB)	L122050	۵۰ میلی لیتر	دمای اتاق
بطری حاوی بافر شستشو (NAW)	W123100	۵۰ میلی لیتر	دمای اتاق
بطری حاوی بافر رهاساز (NAE)	E124010	۱۰ میلی لیتر	دمای اتاق
نانوذرات مغناطیسی (NAM)	M137005	۴.۵ میلی لیتر	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 ( $2-30^{\circ}\text{C}$ ) 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 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
- پلیت ۹۶ خانه
- استریپ (شانه)
- ماژیک

### مزایای استفاده از کیت مغناطیسی استخراج نوکلئیک اسید

- استخراج نوکلئیک اسید 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٪ کاملاً تمیز کرده، سپس به مدت ۲۰ دقیقه تحت پرتو فرابنفش قرار گیرد.
- نمونه‌های مثبت از محلول‌ها و محتویات کیت استخراج نوکلئیک اسید جدا نگهداری شود.

### آماده‌سازی مواد و محلول‌های مورد نیاز

- آون روشن کرده تا دمای آن بر روی  $56^{\circ}\text{C}$  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	مایعات بدن، سرم، پلاسما و ...
مقدار نمونه اولیه	تا ۱۵۰ میکرولیتر
شیوه کار	دستی و اتوماتیک
بیومولکول استخراج شده	نوکلئیک اسید
غلظت استخراج شده	متفاوت بر اساس نمونه ورودی

### مراحل استخراج نوکلئیک اسید به روش دستی

- برای استخراج نوکلئیک اسید از نمونه مد نظر که مقدار آن ۲۰۰ میکرولیتر می‌باشد؛ مواد به ترتیب زیر اضافه شود:
۱. میزان ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه، ۵۰۰ میکرولیتر از NALB و ۳۰ میکرولیتر از NAM را به هر ویال اضافه شود.  
نکته: دقت داشته باشید که قبل از اضافه کردن بید مغناطیسی به ویال محلول آن را خوب بهم زده، و این عمل را برای ویال بعدی نیز تکرار شود.
  ۲. در ویال‌ها را بسته و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شود.
  ۳. ویال‌ها را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای  $56^{\circ}\text{C}$  انکوبه شود.
  ۴. ویال‌ها را خارج کرده و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شود. سپس داخل رک مغناطیسی چیده و پس از چند ثانیه محلول لیز شده را جدا کرده و دور ریخته شود.
  ۵. مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از محلول NAW به هر یک از ویال‌های حاوی بید مغناطیسی جداسازی شده اضافه، و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شود.
  ۶. ویال‌ها را دوباره در داخل رک مغناطیسی قرار داده و پس از چند ثانیه محلول شستشوی جدا شده از بید دور ریخته شود.
  ۷. تمام ویال‌ها را به مدت ۱-۲ دقیقه در دمای  $56^{\circ}\text{C}$  انکوبه کنید تا نمونه‌ها خشک شود (دقت فرمایید عمل خشک کردن بیش از حد انجام نشود).
  ۸. به هر کدام از ویال‌ها مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول NAE اضافه کرده و به خوبی به مدت ۱ دقیقه ورتکس شود. سپس با دمای  $70^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه کنید (هر ۵ دقیقه یکبار ویال‌ها را ورتکس شود).
  ۹. ویال‌ها را دوباره در داخل رک مغناطیسی قرار داده و پس از چند ثانیه محلول NAE حاوی RNA را به ویال‌های دیگر منتقل شود.
  ۱۰. نمونه‌های نوکلئیک اسید استخراج شده را برای استفاده کوتاه مدت در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  و برای استفاده بلند مدت در دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۲۰- نگهداری شود.

## مراحل استخراج همزمان چند نمونه نوکلئیک اسید در پلیت ۹۶ خانه به روش اتوماتیک و نیمه اتوماتیک

قبل از استفاده از این کیت بیدهای مغناطیسی را خوب ورتکس کرده و در هنگام اضافه کردن بیدهای مغناطیسی به هر نمونه به دیسپرس بودن مناسب آن دقت شود.  
برای استخراج نوکلئیک اسید از نمونه که به مقدار ۲۰۰ میکرولیتر می‌باشد؛ موابه ترتیب موارد زیر انجام شود:

۱. ۳۰ میکرولیتر از NAM را به هر چاهک (پلیت لیز/ اتصال) حاوی NALB (۵۰۰ میکرولیتر NALB در هر چاهک از قبل پر شده) اضافه، با استفاده از شانه محتویات هر چاهک را کاملا ترکیب شود.
۲. میزان ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه (پلازما/ سرم/ VTM) به هر چاهک پلیت لیز/ اتصال اضافه شود.
۳. شانه ۹۶ تایی را داخل پلیت قرار داده، با بالا و پایین کردن آن به مدت ۳۰ ثانیه محتویات پلیت لیز/ اتصال مخلوط شود.
۴. پلیت لیز/ اتصال را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای  $56^{\circ}\text{C}$  انکوبه شود.
۵. با استفاده از شانه به مدت ۱ دقیقه محتویات پلیت لیز/ اتصال ترکیب شود.
۶. سپس شانه را بالا آورده، یک هد مغناطیسی ۹۶ شاخه‌ای را داخل شانه قرار داده 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 شود.
۷. بیدهای مغناطیسی جمع‌آوری شده توسط مجموع شانه و هد مغناطیسی را از پلیت لیز/ اتصال به پلیت ۹۶ چاهکی عمیق حاوی NAW (هر چاهک حاوی ۵۰۰ میکرولیتر NAW است که از قبل پر شده) انتقال دهید (پلیت شستشو) و در ادامه شانه را از داخل هد مغناطیسی خارج و با بالا و پایین کردن شانه ۹۶ تایی بیدهای مغناطیسی را در محلول NAW، به مدت ۱ دقیقه شستشو داده شود. (توجه شود که بیدهای مغناطیسی را بیش‌تر از ۲ دقیقه در بافر شستشو نگهداری نشود)
۸. مشابه مرحله‌ی هفتم بیدهای مغناطیسی را از پلیت شستشو خارج کرده و مجموع شانه و هد مغناطیسی را به مدت ۱-۲ دقیقه در خارج از پلیت شستشو نگه دارید تا بیدهای مغناطیسی خشک شوند. (خشک شدن بیدها را تا زمانی که بر روی بیدهای مغناطیسی جمع‌آوری شده ترک مشاهده شود، طولانی نکنید).
۹. با استفاده از مجموع شانه و هد مغناطیسی، بیدهای مغناطیسی را به پلیت حاوی محلول NAE (هر چاهک حاوی  $100\mu\text{l}$ ) با استفاده از مجموع شانه و هد مغناطیسی، بیدهای مغناطیسی را به پلیت حاوی محلول NAE (هر چاهک حاوی  $100\mu\text{l}$ ) انتقال داده و بعد از جداسازی هد مغناطیسی، با استفاده از شانه ۹۶ تایی به مدت ۱ دقیقه بیدهای مغناطیسی را در محلول NAE دیسپرس شود. سپس پلیت را به مدت ۲۰ دقیقه در  $80^{\circ}\text{C}$  انکوبه، و در آخر یک بار دیگر به مدت ۳۰ ثانیه با استفاده از شانه بیدهای مغناطیسی را در محلول NAE دیسپرس شود.
۱۰. بیدهای مغناطیسی در مرحله‌ی آخر توسط مجموع شانه و هد مغناطیسی از پلیت حاوی NAE خارج کرده و شانه ۹۶ تایی و بیدهای مغناطیسی متصل شده به آن را دور ریخته شود.
۱۱. محلول موجود در پلیت NAE حاوی نوکلئیک اسید خالص شده را ابتدا توسط برچسب آلومینیومی پوشش داده و سپس در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شود.

## مراحل استخراج همزمان چند نمونه به صورت اتوماتیک

- در روش اتوماتیک، مراحل فوق توسط دستگاه انجام می‌شود.
- برای مشاهده نحوه استخراج به سایت شرکت به نشانی [www.aminbic.ir](http://www.aminbic.ir) مراجعه کنید.

## رفع مشکلات احتمالی

رفع مشکل	دلیل احتمالی	مشکل
اطمینان حاصل شود که نمونه نوکلئیک اسید در شرایط دمایی مناسب حمل و نگهداری شده است. ترجیحا از نمونه تازه استفاده شود. ذوب و انجماد نمونه نوکلئیک اسید موجب تجزیه نوکلئیک اسیدها به ویژه RNA می شود. از نمونه ای که بیش از یک بار ذوب و سپس منجمد شده است، برای استخراج استفاده نشود.	نگهداری نمونه در شرایط دمایی نامناسب و یا ذوب و انجماد مکرر آن	
برای سواپ: نمونه گیری تکرار شود. برای سرم و پلاسما: حجم بیشتری از نمونه را تغلیظ کنید و مجددا استخراج را تکرار شود.	غلظت پایین نوکلئیک اسید در نمونه مورد استخراج	کم بودن یا عدم وجود نوکلئیک اسید در بافر رها سازی
برای افزایش کارایی رها سازی، حتما پس از اضافه کردن بافر رها سازی محلول را در دمای ۸۰ °C قرار داده و هر ۵ دقیقه یکبار به خوبی هم زده شود.	نوکلئیک اسید به خوبی از بید مغناطیسی جدا نشده است.	
برای نوکلئیک اسید، استفاده از مقادیر کم بافر رها سازی (مثلا ۵۰ میکرولیتر) توصیه می شود. استفاده از حجم کمتر از ۵۰ میکرولیتر یا بیشتر از ۱۰۰ میکرولیتر بافر رها سازی توصیه نمی شود.	رها سازی با حجم زیاد بافر رها سازی	
فرآوری و استخراج نمونه به سرعت انجام داده شود. در صورت نیاز، به نمونه RNase Inhibitor اضافه شود. دقت کنید که محلول ها و بافرها به آنزیم RNase آلوده نشوند و تا آنجا که ممکن است در محیط عاری از RNase کار شود.	نوکلئیک اسید تخریب شده است.	
به بخش " کم بودن یا عدم وجود نوکلئیک اسید در بافر رها سازی " مراجعه شود.	کم بودن یا عدم وجود نوکلئیک اسید در بافر رها سازی	کم بودن یا عدم وجود نوکلئیک اسید از کارایی مناسبی در واکنش های آنزیمی بعدی برخوردار نیست.
دقت داشته باشید که پس از شستشو با بافر NAW و جدا کردن بید مغناطیسی، به منظور خشک شدن نمونه ها در دمای محیط ۵ دقیقه منتظر بمانید.	وارد شدن بافر شستشو در مرحله رها سازی نهایی به دلیل خشک نشدن خوب بید مغناطیسی	
نوکلئیک اسید استخراج شده را در حجم های مختلف در واکنش تکثیر استفاده کنید تا مناسب ترین حجم را بیابید.	کاهش حساسیت واکنش تکثیر (PCR)	
بافر را در دمای ۵۶ °C قرار داده، و اطمینان حاصل شود که رسوب به طور کامل حل شده است.	رسوب ممکن است به دلیل نگهداری در دمای پایین یا نگهداری طولانی مدت ایجاد شود.	مشاهده رسوب در بافر NALB

<p>ممکن است ناشی از آلودگی بین نمونه‌ها یا آلوده شدن محتویات کیت باشد. مجدداً 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.</p>	<p>آلودگی متقاطع بین نمونه‌ها</p>	<p>موارد عمومی</p>
---	-----------------------------------	--------------------

### محدودیت‌های بکارگیری محصول

از کیت‌های استخراج تاریخ گذشته استفاده نشود و حتماً 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 (NALB)

- مایع آتش‌زا؛ 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 مسمومیت می گردد.

##### بافر شستشو (NAW)

- مایع آتش‌زا؛ 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 کاملاً سمی بوده و خوردن آن سبب آسیب داخلی می گردد.

##### ذرات مغناطیسی (NAM)

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

##### بافر رهاساز (NAE)

- هیچ گونه خطری شناسایی نشده است.



## اقدامات کمک‌های اولیه

- تماس با پوست: بلافاصله با آب فراوان شسته شود.
- استنشاق: هوای تازه استنشام شود.
- تماس چشمی: بلافاصله با آب فراوان ، همچنین زیر پلک‌ها را شسته شود.
- بلع: دهان را 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. 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 شست‌شوداده و پس از شستشو با آب فراوان، جهت اطمینان کامل با مقداری وایتکس شسته و دورریخته شود.

## کنترل کیفیت

هر سری ساخت کیت استخراج نوکلئیک اسید 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 لطفاً با [extraction@aminbic.ir](mailto: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](http://www.aminbic.ir) بیابید، آن را تکمیل کرده و برای ما ارسال نمایید. شما می‌توانید با گرفتن شماره پیگیری مربوط، تا دریافت نتیجه نهایی، روند بررسی را پیگیری نمایید.

### دفتر مرکزی

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