



Research
Development
& Production of
Advanced Medical Diagnosis

Quick Guide

Genomic DNA Extraction Kit

مقدمه:

کیت Aramesh Bio Gene Genomic DNA Isolation به منظور استخراج سریع و آسان DNA ژنومیک از نمونه‌های خون کامل، بافی‌کوت، کشت سلول و غیره بر اساس تکنولوژی سلیکا طراحی شده است. به طور اختصار با استفاده از ADLB، و آنزیم P.K، تخلیص DNA ژنومیک از نمونه‌های بیولوژیکی انجام می‌شود. با انجام دو مرحله شستشو، آلودگی‌ها حذف شده و با افزودن بافر ADEB، gDNA از ستون رها می‌شود. gDNA تخلیص شده دارای معیارهای با کیفیت بالا است. gDNA تخلیص شده آماده استفاده برای کاربردهای بعدی خواهد بود.

محتویات:

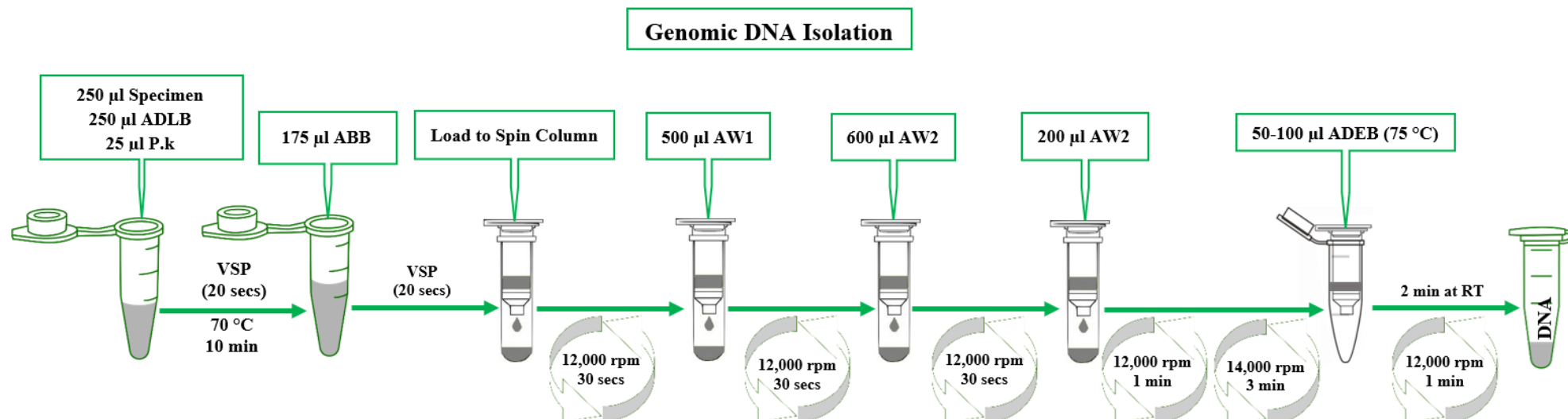
Solution	Storage	50 preps	100 preps	Solution	Storage	50 preps	100 preps
ADLB	+16 to 25°C	12.5 ml	25 ml	Proteinase K	-20°C	1.25 ml	2.5 ml
AW1 (Ready to use)	+16 to 25°C	25 ml	50 ml	ADEB	+16 to 25°C	5 ml	10 ml
AW2 (Ready to use)	+16 to 25°C	30 ml	60 ml	Spin column		50 pcs	100 pcs
ABB	+16 to 25°C	9 ml	18 ml	Collection tube		150 preps	300 preps
G solution	-20°C	500 µl	1 ml				

شرایط استفاده و نگهداری:

Proteinase K (PK) را در مقادیر مناسب توزیع نموده و در دمای 20°C- نگهداری نمایید.

مراحل انجام استخراج (خون، بافی‌کوت و ...):

- ۱- قبل از شروع تست، ویال‌های حاوی نمونه را از یخچال و یا فریزر خارج کرده تا به دمای محیط برسند و یکنواخت نمایید.
- ۲- حتماً بافر ADEB را در 75°C آنکوبه نموده و سپس استفاده نمایید.
- ۳- 250 µl از نمونه را به یک میکروتیوب 1.5 ml اضافه نمایید
- ۴- 250 µl از ADLB و 25 µl از PK را به میکروتیوب 1.5 ml حاوی نمونه اضافه نمایید (از ترکیب همزمان PK و ADLB خودداری نمایید).
- ۵- ۲۰ ثانیه Pulse Vortex نموده تا مواد به خوبی مخلوط شوند. سپس به صورت مختصر اسپین نمایید تا قطرات درون میکروتیوب در پایین آن جمع شوند؛ همچنین از آلودگی با آنروسل جلوگیری می‌شود.
- ۶- در دمای 70 °C به مدت ۱۰ دقیقه آنکوبه نمایید.
- ۷- 175 µl از ABB را به میکروتیوب اضافه کرده، ۲۰ ثانیه Pulse Vortex نمایید تا مواد به خوبی مخلوط شوند. سپس به صورت مختصر اسپین نمایید.
- ۸- کل حجم محلول درون میکروتیوب را به ستون اضافه کرده و ۳۰ ثانیه در 12,000 rpm سانتریفوژ نمایید.
- ۹- کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و با اضافه کردن 500 µl از محلول AW1 در دور 12,000 rpm به مدت ۳۰ ثانیه شستشو دهید.
- ۱۰- کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و با اضافه کردن 600 µl از محلول AW2 در دور 12,000 rpm به مدت ۳۰ ثانیه شستشو دهید.
- ۱۱- کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و با اضافه کردن 200 µl از محلول AW2 در دور 12,000 rpm به مدت ۱ دقیقه شستشو دهید.
- ۱۲- کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و در دور 14,000 rpm به مدت ۳ دقیقه شستشو دهید تا الکل اضافی خارج شود.
- ۱۳- ستون را به یک میکروتیوب جدید منتقل نموده و 50-100 µl از ADEB را به مرکز ستون اضافه نموده و آن را ۲ دقیقه در دمای اتاق آنکوبه نمایید و به مدت ۱ دقیقه در 12,000 rpm سانتریفوژ نمایید.
- ۱۴- DNA حاصل جهت کاربرد بعدی آماده می‌باشد. محلول حاصل را در 20°C- و یا ترجیحاً در 80°C- نگهداری نمایید.





ARAMESH BIO GENE

Research
Development
& Production of
Advanced Medical Diagnosis

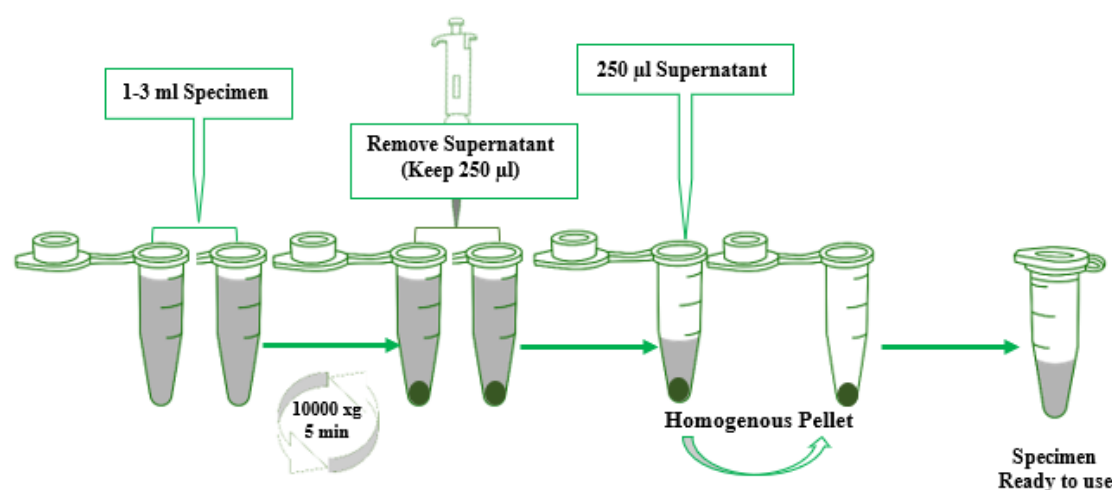
Quick Guide

Genomic DNA Extraction Kit

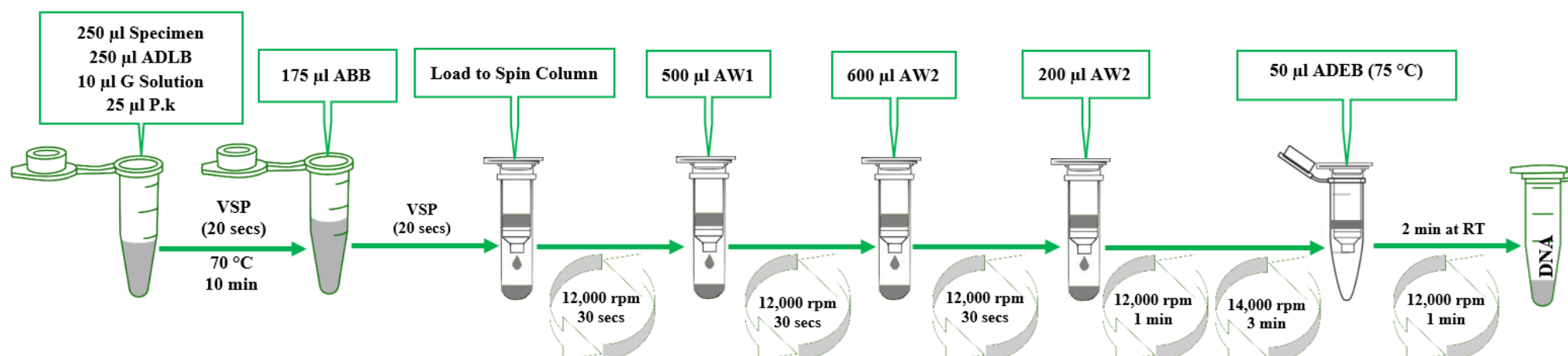
آماده سازی نمونه (مایع آمنیوتیک و مایعات با سلول نامناسب):

- ۱- مقدار 1-3 ml از نمونه را به ۲ میکروتیوب 1.5 ml منتقل نموده و به مدت ۵ دقیقه در دور 10,000 xg سانتریفیوژ نمایید.
 - ۲- پس از تشکیل pellet، مقدار 250 µl از سوپرناتانت را به همراه pellet در میکروتیوب نگهداری کرده و باقی سوپرناتانت را خارج نمایید.
- ❖ **توجه:** در صورتی که تهیه Pellet سلولی از نمونه در دو میکروتیوب انجام گرفته است، 250 µl سوپرناتانت را در یکی از میکروتیوب ها نگهداری نمایید و پس از پیتینگ، محتویات را با Pellet سلولی میکروتیوب دیگر مخلوط نموده و سپس سانتریفیوژ نمایید.
- مراحل انجام استخراج (مایع آمنیوتیک و مایعات با سلول نامناسب):**
- ❖ قبل از شروع تست، نمونه را مطابق با مراحل فوق آماده سازی کنید.
 - ❖ حتما بافر ADEB را در 75° C انکوبه نموده و سپس استفاده نمایید.
 - ❖ 250 µl از نمونه را به یک میکروتیوب 1.5 ml اضافه نمایید.
 - ❖ 250 µl از ADLB، 10 µl از G Solution و 25 µl از PK را به میکروتیوب 1.5 ml حاوی نمونه اضافه نمایید (از ترکیب همزمان PK و ADLB خودداری نمایید).
 - ❖ ۲۰ ثانیه Pulse Vortex نموده تا مواد به خوبی مخلوط شوند. سپس به صورت مختصر اسپین نمایید (از ترکیب همزمان PK و ADLB خودداری نمایید).
 - ❖ در دمای 70 °C به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه نمایید.
 - ❖ 175 µl از ABB را به میکروتیوب اضافه کرده، ۲۰ ثانیه Pulse Vortex نمایید تا مواد به خوبی مخلوط شوند. سپس به صورت مختصر اسپین نمایید.
 - ❖ کل حجم محلول درون میکروتیوب را به ستون اضافه کرده و ۳۰ ثانیه در 12,000 rpm سانتریفیوژ نمایید.
 - ❖ کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و با اضافه کردن 500 µl از محلول AW1 در دور 12,000 rpm به مدت ۳۰ ثانیه شستشو دهید.
 - ❖ کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و با اضافه کردن 600 µl از محلول AW2 در دور 12,000 rpm به مدت ۳۰ ثانیه شستشو دهید.
 - ❖ کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و با اضافه کردن 200 µl از محلول AW2 در دور 12,000 rpm به مدت ۱ دقیقه شستشو دهید.
 - ❖ کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و در دور 14,000 rpm به مدت ۳ دقیقه شستشو دهید تا الکل اضافی خارج شود.
 - ❖ ستون را به یک میکروتیوب جدید منتقل نموده و 50 µl از ADEB را به مرکز ستون اضافه نموده و آن را ۲ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید و به مدت ۱ دقیقه در 12,000 rpm سانتریفیوژ نمایید.
 - ❖ DNA حاصل جهت کاربرد بعدی آماده می‌باشد. محلول حاصل را در 20°C- و یا ترجیحا در 80°C- نگهداری نمایید.

Poor pellet Specimen Preparation



Cell line DNA Isolation





ARAMESH BIO GENE

Research
Development
& Production of
Advanced Medical Diagnosis

Quick Guide

Genomic DNA Extraction Kit

آماده سازی نمونه (Cell lines)

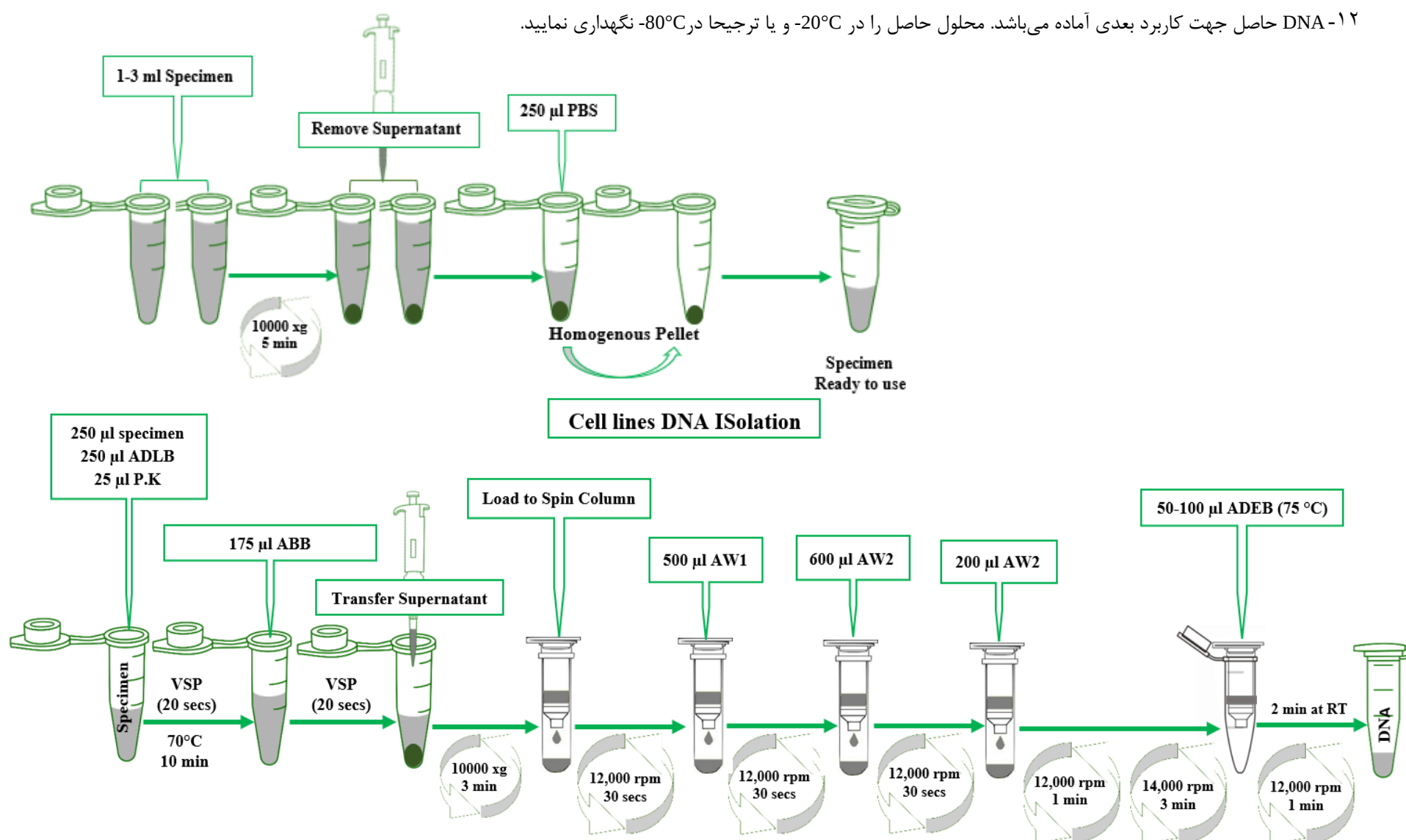
- ۱- مقدار 1-3 ml از نمونه را به ۲ میکروتیوب 1.5 ml، منتقل نموده و به مدت ۵ دقیقه در دور 10,000 xg سانتریفیوژ نمایید و سوپرناتانت را به طور کامل خارج کنید تا Pellet سلولی حاصل شود.
- ۲- با اضافه کردن 1 ml از PBS استریل، Pellet سلولی را به مدت ۳ دقیقه در 10,000 xg شستشو دهید و سوپرناتانت را به طور کامل خارج نمایید.
- توجه: در صورتی که تهیه Pellet سلولی از نمونه در دو میکروتیوب انجام گرفته است، PBS را در یکی از میکروتیوب‌ها ریخته و پس از پیپتینگ، محتویات را با Pellet سلولی میکروتیوب دیگر مخلوط نموده و سپس سانتریفیوژ نمایید.
- ۳- 250 µl از PBS استریل به نمونه اضافه نموده و Pellet سلولی را پیپت نموده تا یکنواخت شود.

مراحل انجام استخراج (Cell lines):

- ۱- حتما بافر ADEB را در 75°C انکوبه نموده و سپس استفاده نمایید.
- ۲- 250 µl از نمونه را به یک میکروتیوب 1.5 ml اضافه نمایید.
- ۳- 250 µl از ADLB و 25 µl از PK را به میکروتیوب 1.5 ml حاوی نمونه (250 µl) اضافه نمایید (از ترکیب همزمان PK و ADLB خودداری نمایید).
- ۴- ۲۰ ثانیه Pulse Vortex نموده تا مواد به خوبی مخلوط شوند. سپس به صورت مختصر اسپین نمایید تا قطرات درون میکروتیوب در پایین آن جمع شوند؛ همچنین از آلودگی با آئروسول جلوگیری می‌شود.
- ۵- در دمای 70°C به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه نمایید.
- ۶- 175 µl از ABB را به میکروتیوب اضافه کرده، ۲۰ ثانیه Pulse Vortex نمایید. سپس میکروتیوب را به مدت ۳ دقیقه در 10,000 xg سانتریفیوژ نموده و سوپرناتانت شفاف را به ستون، انتقال دهید و ۳۰ ثانیه در 12,000 rpm سانتریفیوژ نمایید.
- a. در صورتی که نمونه از pellet کافی برخوردار نیست، پس از افزودن ABB به نمونه، نمونه را مستقیماً به ستون انتقال دهید.
- ۷- کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و با اضافه کردن 500 µl از محلول AW1 در دور 12,000 rpm به مدت ۳۰ ثانیه شستشو دهید.
- ۸- کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و با اضافه کردن 600 µl از محلول AW2 در دور 12,000 rpm به مدت ۳۰ ثانیه شستشو دهید.
- ۹- کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و با اضافه کردن 200 µl از محلول AW2 در دور 12,000 rpm به مدت ۱ دقیقه شستشو دهید.
- ۱۰- کالکشن تیوب را با محتویات آن دور ریخته و ستون را به کالکشن تیوب جدید منتقل نموده و در دور 14,000 rpm به مدت ۳ دقیقه شستشو دهید تا الکل اضافی خارج شود.
- ۱۱- ستون را به یک میکروتیوب جدید منتقل نموده و 50-100 µl از ADEB را به مرکز ستون اضافه نموده و آن را ۲ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید و به مدت ۱ دقیقه در 12,000 rpm سانتریفیوژ نمایید.

Cell line Specimen Preparation

۱۲- DNA حاصل جهت کاربرد بعدی آماده می‌باشد. محلول حاصل را در 20°C- و یا ترجیحاً در 80°C- نگهداری نمایید.



ARAMESH BIO GENE