کیت استخراج DNA ویروسی از خون و مایعات بدن

شماره کاتالوگ (BP-150)

این کیت برای استخراج DNA ویروسی از خون و مایعات بدن می باشد که برای انجام ۵۰ تست آماده شده است. در این کیت ابتدا DNA ویروسی از پلاسمای حاوی ضد انعقاد نظیر EDTA ، سرم و سایر مایعات بدن که فاقد توده سلولی است هستند جدا سازی می شود. این کیت برای استخراج DNA از سرم و پلاسما و سایر مایعات بدن می باشد. در این سیستم ابتدا نمونه سرم و پلاسما و سایر مایعات بدن در حضور ترکیبات لیز کننده نظیر فنل و پروتئین از Kقرار می گیرد. سپس DNA آزاد شده ویروس در حضور Carrier RNA و گوانیدین HCL و ایزوتیوسیانات DNA ویروسی و سپس و با اضافه شدن اتانول ۹۶% و طی چند مرحله شستشو سایر مواد و ناخالصی ها شسته شده و فقط DNA ویروسی به ستون ستون جاذب Spin column اتصال می یابد. در نهایت با اضافه شدن بافر الوشن و شرایط PH بازی DNA ویروسی مورد نظر از ستون شسته شده و برای استفاده های بعدی در فریزر 20- نگهداری می شود.

محتویات کیت:

Components	مقدار
پروتیناز K	$1\times 1200\ \ l$
BP Lysis Buffer	$1\times 24ml$
BP Binding Solution	$1\times 24ml$
BP washing Buffer 1	$1\times 30ml$
BP washing Buffer 2	$1\times 30ml$
BP Elution Buffer	$1\times 3ml$
Spin column	50 عدد

پروتکل انجام آزمایش:

تجهیزات لازم:

دستگاه ترموبلاک

۲- سانتریفیوژ

۳- سمپلر ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ لاندا

روش کار:

۱- ابتدا مقدار 20 µl پروتین ازk به یک میکروتیوب تمیز و استریل بریزید و سپس 200µL از نمونه پلاسمای بیمار به ان اضافه کنید و سپس به آن 200µL از ویال BP Lysis Buffer کنید و و برای مدت ۲۰ ثانیه با دور آهسته ورتکس و سپس اسپین کنید.

۲- سپس به مدت ۱۰ دقیقه میکروتیوب حاصله در دماي ۵۶(ترموبلاگ) درجه قرار داده دهید.

۳- سپس200µL از ویال BP Binding Solution به آن اضافه نموده و همچنین 200µL اتانل ۹۶ درصد به آن اضافه کرده و برای مدت ۲۰ ثانیه با دور آهسته ورتکس و سپس اسپین کنید.

۴- مخلوط حاصله را به Spin column انتقال دهید احتیاط نماید در حین انتقال نباید درب آن مرطوب گردد سپس دور 8000 RPM بمدت ۱ دقیقه سانتریفیوژکنید.

۵- مایع زیر ستون را دور بریزید و سپس 500µL از ویال BP washing Buffer 1 به ان اضافه گردید و سپس در دور 8000 RPM به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژکنید.

۶- مایع زیر ستون را دور بریزید و سپس 500µL از ویال BP washing Buffer 2 به ان اضافه گردید و سپس در دور 14000 RPM به مدت 3 دقیقه سانتریفیوژکنید.

۷- مایع زیر ستون را دور بریزید و سپس در دور 14000 RPM به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژکنید.

۸- ستون Spin column را به يك ميكروتيوب 1.5 ميلي ليتري فاقد RNA & DNA free منقل گردید وبه آن 50µL از ویال BP Elution Buffer اضافه کنید و به مدت ۵ دقیقه در دماي اتاق قرار داده شد و سپس در دور 8000 RPM به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژکنید.

۹- ستون Spin column دور انداخته شد و DNA استخراج شده در ته لوله جمع شده و يا براي استفاده بعدي در فريزر منهاي ۲۰ نگهداري كنيد.

کیت BP DNA Extraction Kit

مواد مورد نیاز:

۱- گوانیدین هیدروکلراید

۲- توئین ۲۰

۳- تریتون X100

۴- NaOH

۵- پروتئیناز K

۶- ستون های سیلیکا خریداری شده از آلمان

۷- تریس هیدروکلراید

۸- سدیم آزاید

۹- اتانل ۹۶%

۱۰- EDTA

۱۱- پروتئیناز K

۱۲- آب Rnase Dnase Free

۱۳- ستون سیلیکا ممبران

پروسه:

این کیت از 5 سری محلول تشکیل شده است.

- **BP Lysis Buffer**

این بافر حاوی ترکیباتی نظیر مقادیر مناسبی از توئین ۲۰، تریتون X-100 ، تریس HCL و محلول EDTA با غلظت مناسب مخلوط کرده و با کمک NaOH پی اچ آن را برروی ۸ تنظیم می کنیم و به کمک آب دوبار تقطیر حجم آن را به یک لیتر می رسانیم. این محلول را به میزان ۴۰ میلی لیتر در ویال های استریل جهت تهیه کیت می ریزیم.

- **BP Binding Solution**

این محلول حاوی ترکیباتی نظیر مقادیر مناسبی از گوانیدین تیوسیانات و تریس هیدروکلراید با مولاریته مناسب می باشد.

- **BP washing Buffer 1**

این بافر در مرحله اول شستشوی ستون استخراج DNA استفاده می شود و حاوی مقدار مناسبی از تریس هیدروکلراید و اتانل است که بصورت کنستانتره ۸۰% ساخته می شود.

- **BP washing Buffer 2**

این بافر در مرحله دوم شستشوی ستون استخراج DNA استفاده می شود و حاوی مقدار مناسبی از تریس هیدروکلراید و اتانل است که بصورت کنستانتره ۶۵% ساخته می شود.

- **BP Elution Buffer**

این بافر حاوی ترکیبات مقدار مناسبی از محلول EDTA با مولاریته مشخص بوده که با مقدار مناسبی از سدیم آزاید ترکیب شده و به کمک سود مقدار پی اچ آن بر روی ۸.۵ تنظیم می شود.

ستون غشایی سیلیکا

ستون غشایی سیلیکا بصورت آماده از شرکت های معتبر خریداری می گردد

آزمون های اعتبار سنجی:

بعد از تولید این کیت آزمون های اعتبار سنجی با کمک نمونه های استاندارد WHO از ویروس حاوی DNA نظیر HBV اعتبار سنجی می شود و کمترین میزان تیتری از این ویروس که توسط کیت قابل تشخیص است مورد ارزیابی قرار می گیرد.

توصیف:

در این کیت ابتدا DNA ویروسی از پلاسمای حاوی ضد انعقاد نظیر EDTA ، سرم و سایر مایعات بدن که فاقد توده سلولی است هستند جدا سازی می شود.

این کیت برای استخراج DNA از سرم و پلاسما و سایر مایعات بدن می باشد. در این سیستم ابتدا نمونه سرم و پلاسما و سایر مایعات بدن در حضور ترکیبات لیز کننده نظیر فنل و پروتئیناز K قرار می گیرد. سپس DNA آزاد شده ویروس در حضور Carrier RNA و گوانیدین HCL و ایزوتیوسیانات DNA ویروسی و سپس و با اضافه شدن اتانول ۹۶% و طی چند موحله شتشو سایر مواد و ناخالصی ها شسته شده و فقط DNA ویروسی به ستون محتوی سیلیکا ژل اتصال می یابد. در نهایت با اضافه شدن بافر الوشن و شرایط PH بازی DNA ویروسی مورد نظر از ستون شسته شده و برای استفاده های بعدی در فریزر 20- نگهداری می شود.