شرکت ویستا زیست فناوری به ژن

کیت تخلیص RNA ویروسی

BehPrep Viral RNA Extraction Kit

- در دمای اتاق نگهداری شود
- تاریخ انقضاء: یک سال پس از تولید

محتویات کیت:

نوع	مقدار
ستون (Spin Column)	100
کالکشن تیوب (Collection Tube)	300
حامل RNA (RNA Carrier)	320µg
بافر لایز (AL Buffer)	30 mL
بافر شستشو (WB Buffer) (آماده مصرف)	105 mL
بافر الوشن (AE Buffer)	10 mL
اتانول 100	30 mL

شرایط نگهداری و پایداری کیت:

ستون ها در کیسه های زیپ دار بسته بندی شده اند و در دمای اتاق (18-25) تا پایان تاریخ انقضاء کیت پایداری دارند. همه محلول ها شفاف هستند و در صورت تشکیل رسوبات نباید از آنها استفاده کرد. محلول ها را در دمای 15-25 درجه سانتی گراد یا در حمام آب 37 درجه سانتیگراد گرم کنید تا رسوبات حل شوند. بافرها ممکن است تا حدودی زرد رنگ باشند که این هیچ تاثیری در عملکرد آن‌ها نخواهد داشت.

درب بافر ها را بلافاصله بعد از استفاده ببندید. لطفاً توجه داشته باشید که ستون ها پس از باز شدن باید فورا مورد استفاده قرار گیرند.

مقدمه:

این کیت شامل تمام مواد لازم جهت تهیه سریع RNA خالص از نمونه های بالینی شامل سرم، پلاسما، بزاق و مایعات بدن می باشد. این کیت شامل ستون ها، بافرها و معرف ها برای لیز مواد، اتصالRNA به ماتریس ستون و شست و شوی RNA در حجم کم می باشد. هر کیت شامل یک کتابچه راهنما با پروتکل دقیق است.

این کیت جهت استخراج RNA موجود در نمونه سرم، پلاسما مایعات بدن طراحی شده است. این کیت بدون آنزیم بوده و بر اساس تکنولوژی اتصال RNA به غشا سیلیکایی ستون عمل می کند و استفاده سریع و راحت را برای کاربر مهیا میکند.

نکات مهم: لطفا قبل از استفاده مطالعه شود.

- توجه: بافر شستشو آماده مصرف می باشد.
- در تمام مراحل دستکش بپوشید و در صورت تماس بین دستکش و نمونه ، آن را فورا تعویض نمایید.
- تمامی مراحل سانتریفیوژ در دمای اتاق (15-25 درجه سانتیگراد) انجام می شود.
- از چرخه انجماد / ذوب خودداری شود.
- نمونه ها را به دمای اتاق برسانید.

- توجه: قبل از استفاده بافر ها را به دمای اتاق برسانید.
- قبل از استفاده بافرها را کاملا مخلوط کنید.
- بافر AL حاوی نمک های گوانیدین می باشد، هنگام استفاده از آن احتیاط لازم را انجام دهید. نمک های گوانیدین با محلول های تمیز کننده واکنش نشان می دهد.

تجهیزات و مواد مورد نیاز (خارج از کیت)

- سمپلر 100-1000 میکرولیتر و 10-100 میکرولیتر و سرسمپلر (RNase/DNase free)
- میکروتیوب 1.5(RNase/DNase free)
- اتانول 96-100٪
- میکروسانتفیوژ
- محلول سدیم کلراید 9 درصد (برای نمونه های کمتر از 200µl)

اخطار:

- بافر AL حاوی نمک های گوانیدین می باشد، هنگام استفاده از آن احتیاط لازم را انجام دهید و حتما از هود لامینار استفاده شود. نمک های گوانیدین با محلول های تمیز کننده واکنش نشان می دهد.
- در تمام مراحل دستکش بپوشید و در صورت تماس بین دستکش و نمونه ، آن را فورا عوض کنید.
- از برخورد بافر ها با چشم و پوست ممانعت کنید.
- هنگام کار با نمونه های انسانی، از متد های توصیه شده برای کار با مواد زیست خطرناک پیروی کنید.

نمونه ها:

این کیت جهت استفاده برای استخراج RNA ویروس SARS-Cov-2 از نمونه های بالینی سرم، پلاسما، بزاق و مایعات بدن می باشد.

آماده سازی بافر ها

حامل RNA (RNA Carrier)

حامل RNA دو هدف را دنبال می کند: اولا، اتصال اسیدهای نوکلئیک ویروسی به غشای سیلیکا را افزایش می دهد؛ به ویژه اگر مولکول های هدف بسیار کمی در نمونه وجود داشته باشد. ثانیا، افزودن مقادیر زیادی از حامل RNA باعث کاهش احتمال تخریب RNA ویروسی می شود.

آماده سازی حامل RNA

320 میکرولیتر بافر AE را به تیوب حاوی 320 میکروگرم حامل RNA لیوفیلیزه اضافه کنید تا یک محلول 1 µg/µl بدست آید. RNA حامل را کاملاً حل کرده و بطور کامل به بافر AL اضافه کنید. بافر AL محتوی RNA حامل در یخچال نگهداری گردد.

توجه: حتما در هنگام کار بافر AL محتوی RNA حامل می بایست به دمای محیط برسد.

توجه: به یاد داشته باشید که حامل RNA در بافر AL حل نمی شود. بنابراین ابتدا باید در بافر AE حل شده و سپس به بافر AL اضافه شود.

بافرشستشو WB

بافر WB در حجم مناسبی تهیه شده و آماده مصرف می باشد و نیازی به افزودن اتانول ندارد. بافر WB در دمای اتاق (15-25 درجه سانتیگراد) به مدت یک سال تا تاریخ انقضاء کیت، پایدار خواهد بود.

فرایند:

آماده سازی نمونه

1) 200 میکرولیتر از نمونه (پلاسما ، سرم ، مایعات بدن و غیره) را به درون تیوب اضافه نمایید.

! اگر حجم نمونه کمتر از 200 میکرولیتر است، مقدار مناسب از محلول کلرید سدیم 0.9٪ را اضافه کنید تا حجم کل به 200 میکرولیتر برسد.

2) 300 میکرولیتر بافر AL حاوی RNA حامل را اضافه کنید و به مدت 15 ثانیه ورتکس کنید تا کاملا مخلوط شود و یک محلول همگن حاصل گردد.
3) تیوب را به مدت 10 دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.

4) 250 میکرولیتر اتانول (96–100٪) به نمونه اضافه کنید و به مدت 15 ثانیه ورتکس نمایید.

! اگر دمای محیط بیش از 25 درجه سانتیگراد بود، اتانول را قبل از اضافه کردن لیز روی یخ خنک کنید.

فرایند استخراج

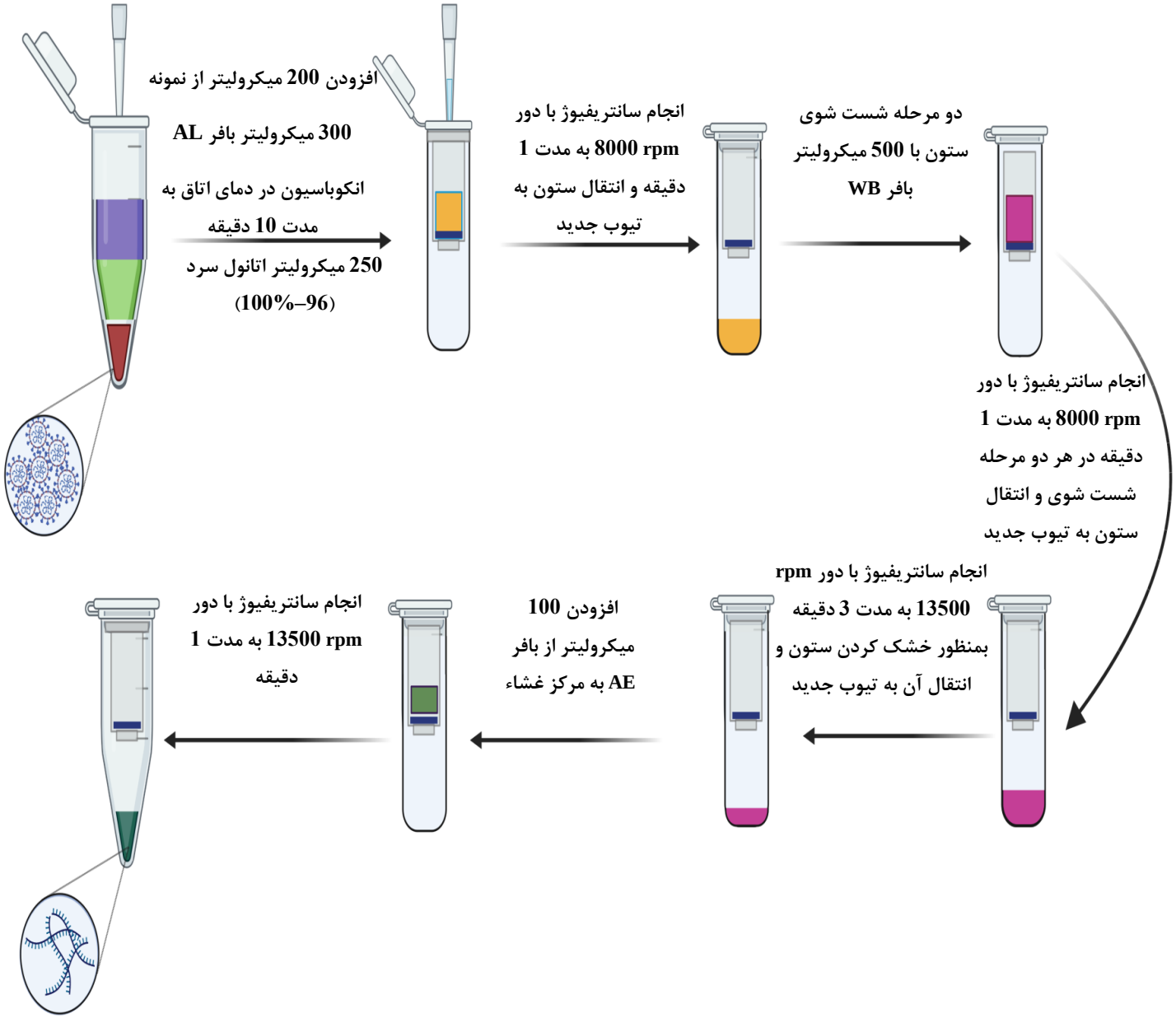
1) با احتیاط تمام نمونه ی آماده سازی شده را بر روی ستون (در مرکز) اضافه کنید و آنرا با دور 8000rpm به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ نمایید.

! اگر نمونه از ستون عبور نکرد ، سانتریفیوژ را با حداکثر سرعت تا زمانی که از ستون عبور کند، انجام دهید.

2) جهت شست و شوی ستون 500 میکرولیتر بافر WB را به ستون اضافه کرده و با دور 8000 rpm به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ کنید. مایع عبوری را دور ریخته و ستون را در تیوب جدیدی قرار دهید.✸
3) مرحله 2 را دوباره تکرار کنید.
4) ستون را با دور 13500 rpm به مدت 3 دقیقه بمنظور خشک کردن سانتریفیوژ نمایید.
5) ستون را داخل میکروتیوپ 1.5ml قرار دهید و سپس 100 میکرولیتر از بافر AE را به مرکز غشاء اضافه کنید. درب را ببندید و 1 دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید. سپس با دور 13500 rpm به مدت 1 دقیقه سانتریفیوژ کنید.
6) مایع عبوری از ستون که در میکروتیوب جمع آوری شده است حاوی RNA خالص می باشد.

✸ این مرحله باعث افزایش عملکرد کیت هنگام کار با نمونه های بازدارنده می شود.

خلاصه تصویری فرایند استخراج



نگهداری RNA استخراج شده

در صورت نیاز به ذخیره RNA استخراج شده، می توان در فریزر منفی 20 درجه سانتی گراد نگهداری کرد.

خطا های کاری

مشاهدات	احتمال خطا	پیشنهادات
میزان بسیار کم یا نبود RNA	میزان کم نمونه	- نمونه با محلول NaCl ٪0/9 مخلوط شود تا به حجم 200 میکرولیتر برسد. - حتما نمونه در مرکز ستون قرار گیرد.
	لیز نامناسب نمونه	- زمان انکوباسیون با بافر AL رعایت شود - ورتکس تا جایی انجام شود که محلولی همگن حاصل شود.
	زیاد فریز و ذوب کردن نمونه	- تا حد امکان از نمونه تازه استفاده شود - تا زمان شروع فرایند استخراج نمونه در فریزر منفی 20 درجه قابل نگهداری می باشد. - نمونه گیری دوباره انجام شود.
	عدم تخلیه کامل محلول از ستون	- مدت زمان سانترفیوژ را بیشتر کنید - حداکثر سرعت (rpm) سانترفیوژ اعمال شود.
	مسدود شدن فیلتر ستون	- بافر ها از نظر وجود رسوب ارزیابی شود. - بافر ها قبل از استفاده به دمای اتاق برسد.
وجود مهار کننده در تست PCR	وجود ماده بازدارنده در نمونه حاصل از استخراج	- شستشوی بیشتر با محلول WB
دو فاز شدن AL و حامل RNA	عدم حل کردن حامل RNA در AE	- حامل RNA باید ابتدا در AE حل شده و سپس به AL اضافه شود در غیر این صورت پودر حامل RNA غیر قابل انحلال خواهد بود.

کنترل کیفیت

تمام اجزا و لات نامبرهای (lot NO.) هر کیت در واحد کنترل کیفیت شرکت ویستا زیست فناوری به ژن بر اساس معیار های مدون از پیش تعیین شده، جهت اطمینان از صحت محصول مورد ارزیابی قرار گرفته است.

آدرس: شیراز، شهرک صنعتی آب باریک، خیابان مینا، درب اول سمت راست.

کد پستی : 7341986200

شماره تماس: 09053633840

وبسایت: www.behgene.com

علائم اختصاری لیبل ها:

کد کالا — REF

شماره سری ساخت — LOT

تاریخ تولید

تاریخ انقضا — EXP DATE

دمای نگهداری

آدرس کارخانه

کاربرد تشخیصی — IVD

مخاطرات زیستی

احتیاط/ خطر

حاوی کاتالوگ

تعداد تست های کیت