



REF : BK-Ext-01
STORE AT : 15-25°
Made in IRAN

مقدمه :

کیت استخراج RNA ویروسی به روش ستونی (Spin Column) BOKARPIRA (SARS-CoV-2-2019) از این کیت می توان برای استخراج RNA از کرونا ویروس جدید استفاده نمود.

RNA استخراج شده در این روش را می توان جهت استفاده در PCR و RT-PCR به کار برد.

محتویات کیت :

محتویات	Label	Volume
1	Binding Buffer	55 ml
2	RNA Carrier	800 ug
3	Inhibitor Removal Buffer	50 ml
4	Wash Buffer	22 ml
5	Elution Buffer(PH:7.5)	15 ml
6	Biomax Filter Tube	100 tubes
7	Collection Tube	4x100 tubes

نکته : محلولها شفاف می باشند و هنگام تشکیل رسوبات نباید از آنها استفاده شود. محلولها را در 15-25 درجه سانتیگراد یا در بین ماری 37 درجه گرم کنید تا رسوبات حل شوند. بافرها میتوانند مقدار کمی زرد رنگ باشند که تاثیری در عملکرد بافر نخواهند داشت.

شرایط نگهداری و پایداری :

اجزای کیت باید در دمای 15-25 درجه سانتیگراد نگهداری شوند . در صورت نگهداری صحیح تمام اجزای کیت تا تاریخ انقضا چاپ شده روی برجسب پایدار هستند. ذخیره نامناسب در دمای 2-8 درجه (یخچال) یا 15- تا 25- (فریزر) بر جداسازی اسید نوکلئیک به دلیل تشکیل رسوبات در محلولها تاثیر منفی خواهد گذاشت .پس از تهیه محلول از RNA Carrier آن را در دمای 15- تا 25- نگهداری کنید .

تجهیزات و مواد اضافی مورد نیاز که در کیت موجود نیست :

1- اتانل خالص

2- میکروسانتریفیوژ

3- میکروتیوب 1,5 سی سی

4- ورتکس

نمونه مورد آزمایش :

200-600 میکرولیتر نمونه (VTM حاوی ویروس گرفته شده از حلق و بینی)

ملاحظات ایمنی :

1-Binding Buffer و Inhibitor Removal Buffer حاوی هیدروکلراید گوانیدین می باشد که یک ماده تحریک کننده است

مراقب باشید با پوست و چشم یا غشای مخاطی شما تماس حاصل نکنند و در صورت تماس بلافاصله ناحیه آسیب دیده را با مقدار زیادی آب بشوئید و اگر معرف ریخت قبل از پاک کردن آن را با آب رقیق کنید

2-از مخلوط کردن Binding Buffer و Inhibitor Removal Buffer با هیپوکلریت سدیم که در سفید کننده های تجاری یافت می شوند اجتناب کنید . این ترکیب بسیار سمی و پایدار می باشد.

مقدمات کار :

شماره	برای استفاده در ...	ذخیره سازی و پایداری	آماده سازی
۱	آماده سازی RNA Carrier	در دمای 15- تا 25- درجه به مدت 12 ماه پایدار می باشد.	RNA Carrier را در یک سی سی Elution Buffer حل کنید استوکهای 120 میکرولیتری تهیه کنید
۲	تهیه محلول کار	همیشه تازه آماده کنید و نگهداری کنید	برای 12 عدد خالص سازی ، یک ویال را با 120 میکرولیتر RNA Carrier و 6 سی سی Binding buffer مخلوط کنید
۳	آماده سازی Wash Buffer	در دمای 15- تا 25- درجه نگهداری کنید تا پایان تاریخ انقضا نوشته شده روی کیت پایدار است	90 سی سی اتانول به محلول Wash اضافه کنید بعد از اضافه کردن اتانل روی بطری را تاریخ گذاری کنید

پروتکل استخراج :

از 200 میکرولیتر نمونه VTM (Virus Transporter medium) جهت استخراج از نمونه هایی که با سواب از گلو و بینی گرفته شده اند .
قبل از خارج کردن سواب از لوله حاوی محیط VTM مجموعه را 5 ثانیه ورتکس کنید .

1- به یک میکروتیوب 1/5 سی سی

- 200 میکرولیتر از نمونه اضافه کنید .

500 میکرولیتر محلول کاری RNA Carrier با Binding Buffer اضافه کرده خوب مخلوط کنید.

- جهت بالا بردن راندمان استخراج به دو برابر پس از افزودن محلول کاری RNA Carrier با Binding Buffer به نمونه مخلوط را در درمای 15-25 درجه به مدت 10 دقیقه انکوبه کنید (اختیاری) در صورت کم بودن زمان این مرحله را حذف کنید.

2- انتقال نمونه به لوله فیلتر Biomax :

- یک فیلتر Biomax را در یک Collection Tube قرار دهید

- کل نمونه را به مخزن بالایی لوله فیلتر اضافه کنید .

3- کل مجموعه لوله فیلتر Biomax را درون یک سانتریفیوژ رومیزی استاندارد قرار دهید.

- لوله را 11 دقیقه با دور 8000 سانتریفیوژ کنید.

4- پس از سانتریفیوژ:

- Filter Tube را از مجموعه Collection خارج کنید ، مایع محلول و مجموعه Collection را دور بیندازید.

- Filter را در یک Collection Tube جدید قرار دهید.

5- پس از قرار دادن مجدد لوله فیلتر:

- 500 میکرولیتر بافر Removal inhibitor را به مخزن بالایی Filter Tube اضافه کرده و

1 دقیقه با 8000 دور سانتریفیوژ کنید.

- محلول را دور بریزید و Filter را به یک Collection Tube وارد کنید.

6- پس از حذف مهار کننده ها:

- 500 میکرولیتر Wash buffer را به لوله فیلتر اضافه کنید.

- یک دقیقه با 8000 دور سانتریفیوژ کنید و محلول را دور بریزید.

7- پس از اولین شستشو و سانتریفیوژ:

- فیلتر را از مجموعه Collection Tube خارج کنید ، محلول و لوله Collection را دور بریزید.

- فیلتر را در یک Collection Tube جدید قرار دهید.

- برای شستشو بهتر مجدداً 500 میکرولیتر Wash buffer را به لوله فیلتر اضافه کنید.

- سانتریفیوژ 1 دقیقه با 8000 دور.

- Filter Tube-Collection را در سانتریفیوژ بگذارید و آن را به مدت 3 دقیقه با حداکثر سرعت (تقریباً 13000 g) برای از بین بردن باقی مانده بافر شستشو سانتریفیوژ کنید.

زمان سانتریفیوژ اضافی ، حذف بافر باقیمانده شستشو را تضمین می کند.

8- Collection Collection را دور بریزید و Filter Tube را در یک

میکروتیوب تمیز و استریل 1,5 میلی لیتری وارد کنید.

9- برای استخراج RNA ویروسی:

- 50 میکرولیتر بافر Elution بافر را به مخزن بالایی لوله فیلتر اضافه کنید.

- مجموعه لوله را به مدت 1 دقیقه با دور 8000 سانتریفیوژ کنید.

10 - میکروتیوب اکنون حاوی RNA ویروسی استخراج شده است.

یا از RNA استخراج شده مستقیماً در RT-PCR استفاده کنید یا RNA استخراج شده را در دمای -80 درجه سانتیگراد ذخیره کنید تا بعداً تجزیه و تحلیل شود.

برای واکنش رونویسی معکوس از 6 - 3/5 میکرولیتر ماده خروجی استفاده کنید.

محدودیت :

مطابق اعلام شرکت تولید کننده ستون استخراج ، ظرفیت استخراج هر ستون تا 20 میکرو گرم می باشد.



آدرس کارخانه :

تهران - جاده خاوران - شهرک صنعتی پایتخت - خیابان بید - تلفن 02334573573

آدرس دفتر فروش :

تهران - خیابان ستارخان - خیابان کوثر دوم - کوچه امینی - پلاک 21 - واحد 1
تلفن : 02166569184

وب سایت : www.biokarpira.com