

شرایط نگهداری:

این کیت در دمای اتاق و دور از تابش مستقیم نور آفتاب به مدت دو سال پایدار می باشد.

مواد و دستگاه های مورد نیاز:

Adjustable Volume Pipette
Biosafety cabinet
Vortex spin
RNAse free filter tips
Desktop micro centrifuge (14,000 x g)
RNAse free sterile micro tube
Biohazard waste container
Micro tube racks
Absolut ethanol
Single-use glove

هشدار و اقدامات احتیاطی:

- این دستورالعمل برای پرسنل آموزش دیده برای انجام آزمایشات مولکولی تدوین شده است. لطفاً قبل از شروع کار دستورالعمل با دقت خوانده شود.
- نمونه ها باید به عنوان مواد عفونی بالقوه در نظر گرفته شوند و در زیر هود لامینار آماده سازی شوند.
- به تاریخ انقضا کیت توجه شود.
- همیشه از نوک سمپلر فیلتر دار استفاده شود.

⚠ احتیاط: محلول های سفید کننده یا اسیدی را مستقیماً به پسماندهای آماده سازی نمونه اضافه نکنید.

مورد استفاده:

این کیت جهت استخراج **Total RNA** با خلوص بالا از نمونه های مایعات انسانی و حیوانی شامل: سرم، پلاسما، مایع مغزی نخاعی، مایع مفصلی، ترشحات دستگاه تنفسی تحتانی و فوقانی، مایع آسیت، پلور قابل استفاده می باشد.

اساس و ویژگی ها:

این کیت استخراج بر پایه ستون سیلیکا می باشد. بافر لایز این کیت محتوی دترجنت ، گوانیدین ایزوتیوسیانات، نگهدارنده RNA و بافر می باشد. محلول های مرحله شستشوی این کیت حاوی گوانیدین هیدروکلراید و بافر می باشد.

RNA استخراج شده می تواند برای اهداف مختلف از جمله اندازه گیری بیان ژن، بررسی حضور RNA ارگانیسم ها در نمونه (RT-PCR) استفاده شود.

محتوای کیت:

محتویات	مقدار	شرایط نگهداری
Lysis Buffer (LB)	22 ml	دمای اتاق ۱۵-۲۵°C
Binding Buffer (BB)	30 ml	
Wash Buffer1 (WB1)	40 ml	
Wash Buffer2 (WB2)	10 ml	
Elution Buffer (EB)	20 ml	
Spin Column	100	
Collection tube	200	

۳- ۲۵۰ میکرولیتر بافر BB به مخلوط لایز و نمونه اضافه کرده، به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.

۴- ۷۰۰ میکرولیتر محتوی تیوب را به داخل ستون قرار گرفته در تیوب جمع آوری انتقال داده و به مدت ۱ دقیقه در دور ۸۰۰۰ g سانتریفیوژ نمایید.

۵- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به آن ۵۰۰ میکرولیتر بافر WB1 را اضافه نموده و به مدت ۱ دقیقه در دور ۸۰۰۰ g سانتریفیوژ نمایید.

۶- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به آن ۶۵۰ میکرولیتر بافر WB2 را اضافه نموده و به مدت ۱ دقیقه در دور ۸۰۰۰ g سانتریفیوژ نمایید.

۷- ستون را داخل تیوب جمع آوری جدید قرار داده و به مدت ۱ دقیقه در حداکثر دور، سانتریفیوژ نمایید.

۸- ستون را داخل تیوب ۱/۵ میلی لیتر قرار داده و به آن ۶۰ میکرولیتر آب بدون نوکلئاز EB اضافه نموده و به مدت ۱ دقیقه در حداکثر دور، سانتریفیوژ نمایید.

۹- محلول حاصله برای تمامی واکنش های مولکولی قابل استفاده بوده و در صورت انجام آزمایش در آینده، در دمای ۷۰- نگهداری گردد.

تصویر علائم هشدار و نگهداری:



هشدار / خطر بالقوه



احتیاط / حساسیت زا و التهاب آور

بافر LB و WB1

حاوی: هیدروکلراید گوانیدین. هشدار! در صورت بلعیدن یا استنشاق ممکن است مضر باشد. باعث تحریک پوست و سوزش جدی چشم می شود و ممکن است باعث یک واکنش حساسیت پوستی شود. در صورت ادامه تحریک چشم، توصیه پزشکی را اعمال کنید. قبل از استفاده مجدد، لباسهای آلوده را درآورد و بشویید. از دستکش محافظ / لباس محافظ / محافظ چشم / محافظ صورت استفاده کنید.

جمع آوری، نگهداری و حمل و نقل نمونه:

- نمونه ها را در لوله های استریل جمع آوری شود.
- نمونه های عفونی در محیط و ظرف انتقال مخصوص به آزمایشگاه منتقل شده و کار با ملاحظات ایمنی زیستی انجام شود.
- نمونه ها میتوانند بلافاصله استخراج شوند یا در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد یا ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شوند.

روش کار:

آماده سازی محلول ها قبل از شروع کار

۲۷ میلی لیتر اتانول به WB1 اضافه شود.

۶۵ میلی لیتر اتانول به WB2 اضافه شود.

۱- ۲۰۰ میکرولیتر محلول لایز را داخل تیوب ۱/۵ میلی لیتری ریخته و به آن ۲۵۰ میکرولیتر نمونه بیمار را اضافه نمایید. به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.

۲- ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده، سپس به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.