

AMINBIC

Advanced Materials Innovation

راهنمای کاربردی

کیت استخراج ستونی RNA ویروسی

SilBic™ Viral RNA Extraction Kit **(Column-based)**

نسخه ۱

فهرست

۱	محتویات کیت
۱	دمای اتاق
۱	شرایط نگهداری محتویات کیت
۱	مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج
۱	مزایای استفاده از کیت ستونی استخراج RNA ویروسی
۲	نکات عمومی مهم
۲	آماده‌سازی مواد و محلول‌های مورد نیاز
۲	ویژگی‌ها
۲	مراحل استخراج RNA
۳	رفع مشکلات احتمالی
۴	محدودیت‌های بکارگیری محصول
۴	اطلاعات ایمنی و شناسایی خطرات
۴	خطرات
۴	اطلاعات مربوط به هر ترکیب/ماده
۵	اقدامات کمک‌های اولیه
۵	اقدامات احتیاطی شخصی
۵	اقدامات احتیاطی محیطی
۵	کنترل کیفیت
۶	نشانه‌ها
۶	پشتیبانی فنی
۶	دفتر مرکزی

محتویات کیت

محتویات	شماره کاتالوگ	تعداد / مقدار (میلی لیتر)	شرایط نگهداری
بطری حاوی بافر لیز (Reagent I)	L102050	۵۰	دمای اتاق
بطری حاوی بافر شستشو (Reagent II)	W103100	۲ x ۵۰	دمای اتاق
بطری حاوی بافر رهاساز (REB)	E104010	۱۰	دمای اتاق
High pure column	-	۱۰۰	دمای اتاق
Collection tube	-	۱۰۰	دمای اتاق

شرایط نگهداری محتویات کیت

- شرایط ارسال توسط شرکت روناش تکنولوژی پارس چک می‌شود. پس از دریافت محصول، همه بافرها در جای خشک و خنک نگهداری شود.
- پس از هر بار استفاده درب بطری‌ها را محکم ببندید تا از تبخیر و تغییر غلظت محلول‌ها جلوگیری شود.
- در صورت رعایت شرایط نگهداری ذکر شده، کیت تا پایان تاریخ انقضا ذکر شده ماندگار است. برای اطلاع از شماره سری ساخت و تاریخ انقضای کیت به برچسب روی جعبه کیت شود.

مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج

- اتانول (۷۰٪)
- سمپلر
- سرسمپلرهای فیلتردار سترون (استریل) عاری از نوکلئازها
- میکروتیوب‌های ۱.۵ میلی لیتر سترون
- دستکش
- ورتکس
- آون
- ماژیک

مزایای استفاده از کیت ستونی استخراج RNA ویروسی

- استخراج RNA با کیفیت بالا
- افزایش سرعت و کاهش زمان برای هر استخراج
- مناسب برای افراد کم تجربه

نکات عمومی مهم

- بافرهای استخراج حاوی نمک‌های کائوتروپیک هستند، از ریختن آن‌ها در محلول‌های ضدعفونی کننده حاوی سفید کننده خودداری شود.
- به منظور پیشگیری از آلودگی به ویروس از وسایل و لباس حفاظتی مناسب استفاده کرده و کلیه نمونه‌ها بالقوه مثبت و بیماری‌زا در نظر گرفته شود.
- برای جلوگیری از آلودگی محتویات کیت به نمونه‌های مورد نظر، بهتر است از سرسمپلرهای فیلتردار استفاده و پس از هر بار استفاده، سرسمپلر تعویض شود.
- همواره قبل و بعد از انجام آزمایش سطح زیر هود/ میز را با پنبه آغشته به الکل ۷۰٪ کاملاً تمیز کرده، سپس به مدت ۲۰ دقیقه تحت پرتو فرابنفش قرار گیرد.
- نمونه‌های مثبت از محلول‌ها و محتویات کیت استخراج RNA جدا نگهداری شود.

آماده‌سازی مواد و محلول‌های مورد نیاز

- آون روشن کرده تا دمای آن بر روی 56°C ثابت شود.
- به منظور دورریز نمونه‌ها و سرسمپلرها، یک محلول ضدعفونی کننده حاوی سفید کننده (وایتکس) را با نسبت ۱/۴ رقیق کرده و زیر هود قرار داده شود.

ویژگی‌ها

اطلاعات	توضیحات
نوع تکنولوژی	تکنولوژی ستون‌های سیلیکایی
نوع نمونه	نمونه ویروسی
منبع نمونه	مایعات بدن، سرم، پلاسما و ...
مقدار نمونه اولیه	تا ۱۵۰ میکرولیتر
شیوه کار	دستی
بیومولکول استخراج شده	RNA
غلظت استخراج شده	متفاوت بر اساس نمونه ورودی

مراحل استخراج RNA

۱. ۵۵۰ میکرولیتر محلول Reagent I را به یک میکروتیوب ۱.۵ میلی‌لیتر اضافه کرده و سپس ۱۵۰ میکرولیتر از نمونه به میکروتیوب افزوده شود. سپس به مدت ۱۵ ثانیه به خوبی ورتکس، و پس از آن میکروتیوب‌ها چند ثانیه اسپین شود.
۲. میکروتیوب‌ها را در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کنید (برای نتیجه بهتر در دمای 56°C انکوبه کنید).

۳. لیزات آماده شده را به آرامی و با دقت در مرکز ستون‌های استخراج، که از قبل درون کالکشن تیوب‌ها قرار گرفته شده است، ریخته شود.
۴. به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ کرده، محلول عبور کرده از ستون را دور ریخته، و ستون را مجدد در کالکشن تیوب قرار داده شود.
۵. ۵۰۰ میکرولیتر از بافر Reagent II را به ستون اضافه، و با سرعت ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ، محلول عبور کرده از ستون را دور، ستون را مجدد در کالکشن تیوب قرار داده شود.
۶. مرحله ۵ را یکبار دیگر تکرار شود.
۷. ستون را به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه مجدد سانتریفیوژ، تا بافر باقیمانده از ستون خارج شود.
۸. ستون را به میکروتیوب ۱.۵ میلی‌لیتر تمیز منتقل شود.
۹. ۷۰-۱۲۰ میکرولیتر از بافر REB را به مرکز ستون اضافه، و اجازه دهید به مدت حداقل ۱ دقیقه در دمای اتاق باقی بماند.
۱۰. RNA را به وسیله سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه شست‌وشو داده شود. محلول زیر ستون حاوی RNA است.

رفع مشکلات احتمالی

مشکل	دلیل احتمالی	رفع مشکل
کم بودن یا عدم وجود RNA در بافر رهاسازی	نگهداری نمونه RNA در شرایط دمایی نامناسب و یا ذوب و انجماد مکرر آن	اطمینان حاصل شود که نمونه RNA در شرایط دمایی مناسب حمل و نگهداری شده است. ترجیحا از نمونه تازه استفاده شود. ذوب و انجماد نمونه RNA موجب تجزیه RNA ویروسی می‌شود. از نمونه‌ای که بیش از یک بار ذوب و سپس منجمد شده است، برای استخراج استفاده نشود.
غلظت پایین ویروس در نمونه مورد استخراج		برای سواپ: نمونه گیری را تکرار شود. برای سرم و پلاسما: حجم بیشتری از نمونه را تغلیظ کنید و مجددا استخراج را تکرار شود.
RNA به خوبی از ستون جدا نشده است.		برای افزایش کارایی رهاسازی، حتما پس از اضافه کردن بافر رهاسازی محلول را در دمای °C ۸۰ قرار داده و هر ۵ دقیقه یکبار به خوبی هم زده شود.
رهاسازی با حجم زیاد بافر رهاسازی		برای RNA ویروسی، استفاده از مقادیر کم بافر رهاسازی (مثلا ۵۰ میکرولیتر) توصیه می‌شود. استفاده از حجم کمتر از ۵۰ میکرولیتر یا بیشتر از ۱۰۰ میکرولیتر بافر رهاسازی توصیه نمی‌شود.

فرآوری و استخراج نمونه را به سرعت انجام داده شود. در صورت نیاز، به نمونه RNase Inhibitor اضافه شود. دقت کنید که محلول‌ها و بافرها به آنزیم RNase آلوده نشوند و تا آنجا که ممکن است در محیط عاری از RNase کار شود.	RNA ویروسی تخریب شده است.	
به بخش " کم بودن یا عدم وجود RNA ویروسی در بافر رها سازی " مراجعه شود.	کم بودن یا عدم وجود RNA در بافر رها سازی	RNA ویروسی از کارایی مناسبی در واکنش‌های آنزیمی بعدی برخوردار نیست.
استخراج شده را در حجم‌های مختلف در واکنش تکثیر استفاده کنید تا مناسب‌ترین حجم را بیابید.	کاهش حساسیت واکنش تکثیر (PCR)	
بافر را در دمای ۵۶ °C قرار داده، و اطمینان حاصل شود که رسوب به طور کامل حل شده است.	رسوب ممکن است به دلیل نگهداری در دمای پایین یا نگهداری طولانی مدت ایجاد شود.	مشاهده رسوب در بافر Reagent I
ممکن است ناشی از آلودگی بین نمونه‌ها یا آلوده شدن محتویات کیت باشد. مجدداً استخراج را با نمونه جدید تکرار کنید و در صورت مرتفع نشدن مشکل این کار را با کیت جدید تکرار شود. در آماده‌سازی محلول‌های کیت و در استفاده از آن‌ها دقت کنید و هر بار نوک سمپلر را تعویض شود.	آلودگی متقاطع بین نمونه‌ها	موارد عمومی

محدودیت‌های بکارگیری محصول

از کیت‌های استخراج تاریخ گذشته استفاده نشود و حتماً به تاریخ انقضای ثبت شده روی جعبه توجه شود.

اطلاعات ایمنی و شناسایی خطرات

این کیت برای انسان و محیط زیست خطرناک نیست ولی به دلیل استفاده از ویروس بیماری‌زا به عنوان نمونه مورد آزمایش، باید تمام پروتکل‌های ایمنی و بهداشتی در رابطه با ویروس رعایت شود.

خطرات

تقسیم بندی مواد و ترکیبات

مواد و ترکیبات مختلفی در کیت و بافرها استفاده شده است. خطرات و موارد احتیاطی هر کدام در قسمت بعد بیان شده است.

اطلاعات مربوط به هر ترکیب/ماده

بافر لیز (Reagent I)

- مایع آتش‌زا؛ مایع و بخارات آن آتش گیر هستند.
- تحریک چشمی: در صورت تماس با چشم سبب حساسیت شدید چشمی میشود.
- تحریک پوستی: در صورت تماس با پوست سبب تحریک و ایجاد حساسیت و خارش پوستی میشود.

- سمی بودن: مایع سمی بوده و خوردن آن سبب مسمومیت می گردد.

بافر شستشو (Reagent II)

- مایع آتش زا: مایع و بخارات آن آتش گیر هستند.
- تحریک چشمی: در صورت تماس با چشم سبب حساسیت شدید چشمی/آسیب به چشم میشود.
- تحریک پوستی: در صورت تماس با پوست سبب تحریک و ایجاد حساسیت و خارش پوستی میشود.
- سمی بودن: مایع کاملاً سمی بوده و خوردن آن سبب آسیب داخلی می گردد.

بافر رهاساز (REB)

- هیچ گونه خطری شناسایی نشده است.

اقدامات کمک‌های اولیه

- تماس با پوست: بلافاصله با آب فراوان شسته شود.
- استنشاق: هوای تازه استنشام شود.
- تماس چشمی: بلافاصله با آب فراوان ، همچنین زیر پلک‌ها را شسته شود.
- بلع: دهان را با آب فراوان شسته شود. به دکتر مراجعه و محتویات بلعیده شده از معده تخلیه گردد.

اقدامات احتیاطی شخصی

همیشه از وسایل حفاظت شخصی توصیه شده، استفاده کنید. از تهویه مناسب اطمینان حاصل کنید.

اقدامات احتیاطی محیطی

در صورت ریختن بافرها، از ورود محصول به فاضلاب جلوگیری شود. با اسفنج یا پارچه مرطوب یا مواد جاذب بی‌اثر پاک شود. قبل از ریختن پسماند در فاضلاب، ابتدا بر روی تمام پسماند، مایع ظرفشویی ریخته و خوب مخلوط شود. پس از ۵ دقیقه شست‌شو داده و پس از شست‌شو با آب فراوان، جهت اطمینان کامل با مقداری وایتکس شسته و دورریخته شود.

کنترل کیفیت

هر سری ساخت کیت استخراج RNA برای اطمینان از ثابت بودن و یکنواختی کیفیت محصول، از جهت یک سری خصوصیات از پیش تعیین شده مورد آزمایش قرار می‌گیرد.

نشانه‌ها



تعداد تست‌ها در هر کیت

شرایط نگهداری

شناسه فرآورده

سری ساخت

تاریخ انقضا

تاریخ تولید

شرکت سازنده

دستورالعمل استفاده در تست‌های تشخیصی In vitro

پشتیبانی فنی

در صورت نیاز به پشتیبانی فنی لطفاً با extraction@aminbic.ir یا شماره ۰۹۳۶۵۶۵۰۵۶۳ تماس بگیرید. اگر کیفیت هر یک از خدمات/ محصولات ما مطابق درخواست شما نبود؛ با واحد پشتیبانی تماس بگیرید و یا فرم "اعلام عدم رضایت از کارکرد محصول" را در سایت شرکت به نشانی www.aminbic.ir بیابید، آن را تکمیل کرده و برای ما ارسال نمایید. شما می‌توانید با گرفتن شماره پیگیری مربوط، تا دریافت نتیجه نهایی، روند بررسی را پیگیری نمایید.

دفتر مرکزی

واحد تولید: تهران، خیابان کارگر شمالی، پردیس شمالی دانشگاه تهران، انستیتو الکتروشیمی، طبقه سوم، واحد ۴۰۲