

**مواد و دستگاه‌های 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. لطفا قبل از شروع کار دستورالعمل با دقت خوانده شود.
- نمونه‌ها 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:** محلول‌های 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 نمونه‌های مایعات انسانی و حیوانی شامل: سرم، پلاسما، مایع مغزی نخاعی، مایع مفصلی، ترشحات دستگاه تنفسی تحتانی و فوقانی، مایع آسیت، پلور قابل استفاده می‌باشد.

**اساس ویژگی‌ها:**

این کیت استخراج بر پایه ستون سیلیکا می‌باشد. بافر لایز این کیت محتوی دترجنت، گوانیدین ایزوتیوسیانات، نگهدارنده RNA و بافر می‌باشد. محلول‌های مرحله‌ی شستشوی این کیت حاوی گوانیدین هیدروکلراید و بافر می‌باشد.

RNA استخراج شده می‌تواند برای اهداف مختلف از جمله اندازه‌گیری بیان ژن، بررسی حضور RNA ارگانسیم‌ها در نمونه (RT-PCR) استفاده شود.

**محتوای کیت:**

محتویات	مقدار	شرایط نگهداری
Lysis Buffer (LB)	22 ml	دمای اتاق 25-15 C
Binding Buffer (BB)	30 ml	
Wash Buffer1 (WB1)	40 ml	
Wash Buffer2 (WB2)	15 ml	
Elution Buffer (EB)	20 ml	
Column	100	
Collection tube	200	

**شرایط نگهداری:**

این کیت در دمای اتاق و دور از تابش مستقیم نور آفتاب به مدت دوسال پایدار می‌باشد.



بافر LB و WB<sup>۱</sup>

حاوی: هیدروکلراید گوانیدین. هشدار! در صورت بلعیدن یا استنشاق ممکن است مضر باشد. باعث تحریک پوست و سوزش جدی چشم می‌شود 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 درآورید و بشویید. از دستکش محافظ / لباس محافظ / محافظ چشم / محافظ صورت استفاده کنید.

### جمع‌آوری، نگهداری و حمل و نقل نمونه:

نمونه‌ها را در لوله‌های استریل جمع‌آوری شود.  
نمونه‌های عفونی در محیط و ظرف انتقال مخصوص به آزمایشگاه منتقل شده و کار با ملاحظات ایمنی زیستی انجام شود.  
نمونه‌ها می‌توانند بلافاصله استخراج شوند یا در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد یا ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شوند.

### روش کار:

آماده سازی محلول‌ها قبل از شروع کار

۲۷ میلی‌لیتر اتانول به WB<sup>۱</sup> اضافه شود.

۶۵ میلی‌لیتر اتانول به WB<sup>۲</sup> اضافه شود.

- ۵- 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.
- ۶- ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده، سپس به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.
- ۷- ۲۵۰ میکرولیتر بافر BB به مخلوط لایز و نمونه اضافه کرده، به مدت ۵ ثانیه ورتکس و اسپین نمایید.
- ۸- ۷۰۰ میکرولیتر محتوی تیوب را به داخل ستون قرار گرفته در تیوب جمع‌آوری انتقال داده و به مدت ۱ دقیقه در دور ۸۰۰۰ g سانتریفیوژ نمایید.

- ۱- ستون را داخل تیوب جمع‌آوری جدید قرار داده و به آن ۵۰۰ میکرولیتر بافر WB<sup>۱</sup> را اضافه نموده و به مدت ۱ دقیقه در دور ۸۰۰۰ g سانتریفیوژ نمایید.
- ۲- ستون را داخل تیوب جمع‌آوری جدید قرار داده و به مدت ۱ دقیقه در حداکثر دور، سانتریفیوژ نمایید.
- ۳- 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.
- ۴- محلول حاصله برای تمامی واکنش‌های 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 / حساسیت‌زا و التهاب آور

### منابع:

۱. Dundas, N., Leos, N. K., Mitui, M., Revell, P., & Rogers, B. B. (2008). Comparison of Automated Nucleic Acid Extraction Methods with Manual Extraction. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 10(4), 311-316. [doi.org/10.2353/jmoldx.2008.070149](https://doi.org/10.2353/jmoldx.2008.070149).
۲. Mohammadi, T., Reesink, H. W., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E., & Savelkoul, P. H. M. (2005). Removal of contaminating DNA from commercial nucleic acid extraction kit reagents. *Journal of Microbiological Methods*, 61(2), 285-288. [doi.org/10.1016/j.mimet.2004.11.018](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2004.11.018).
۳. Li, B., Mou, X., Chen, Z., Chen, H., Deng, Y., Li, S. He, N. (2017). The development of a rapid high-quality universal nucleic acid extraction kit based on magnetic separation. *Science China Chemistry*, 60(12), 1602-1608. [doi:10.1007/s11426-017-9061-1](https://doi.org/10.1007/s11426-017-9061-1).
۴. Zhang, D., Lou, X., Yan, H., Pan, J., Mao, H., Tang, H. Ma, X. (2018). Metagenomic analysis of viral nucleic acid extraction methods in respiratory clinical samples. *BMC Genomics*, 19(1). [doi:10.1186/s12864-018-0152-5](https://doi.org/10.1186/s12864-018-0152-5).