

AMINBIC

Advanced Materials Innovation

راهنمای کاربردی

کیت استخراج مغناطیسی RNA ویروسی

MagBic™ Viral RNA Extraction Kit

ویرایش ۱

فهرست

۱	محتویات کیت
۱	شرایط نگهداری محتویات کیت
۱	مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج دستی
۲	مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج اتوماتیک و نیمه اتوماتیک
۲	مزایای استفاده از کیت ستونی استخراج RNA و پروسی
۲	نکات عمومی مهم
۲	آماده‌سازی مواد و محلول‌های مورد نیاز
۳	ویژگی‌ها
۳	مراحل استخراج RNA به روش دستی
۴	مراحل استخراج همزمان چند نمونه RNA در پلیت ۹۶ خانه به روش اتوماتیک و نیمه اتوماتیک
۴	مراحل استخراج همزمان چند نمونه به صورت اتوماتیک
۵	رفع مشکلات احتمالی
6	محدودیت‌های بکارگیری محصول
6	اطلاعات ایمنی و شناسایی خطرات
6	اطلاعات مربوط به هر ترکیب/ماده
۷	اقدامات کمک‌های اولیه
۷	اقدامات احتیاطی شخصی
۷	اقدامات احتیاطی محیطی
۷	کنترل کیفیت
۷	نشانه‌ها
۸	پشتیبانی فنی
۸	دفتر مرکزی

محتویات کیت

محتویات	شماره کاتالوگ	مقدار (میلی لیتر)	شرایط نگهداری
بطری حاوی بافر لیز (RI)	L102050	۵۰	دمای اتاق
بطری حاوی بافر شستشو (RII)	W103050	۲ x ۵۰	دمای اتاق
بطری حاوی بافر رهاساز (REB)	E104010	۱۰	دمای اتاق
نانوذرات مغناطیسی (RMB14)	M107005	۴,۵	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 توجه شود.

مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج دستی

- اتانول (۷۰٪)
- سمپلر
- سرسمپلرهای فیلتردار سترون (استریل) عاری از نوکلئازها
- میکروتیوب‌های ۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتری سترون
- دستکش
- ورتکس
- آون
- ماژیک
- رک مغناطیسی

مواد و وسایل مورد نیاز مکمل جهت استخراج اتوماتیک و نیمه اتوماتیک

- اتانول (۷۰٪)
- سمپلر
- سرسمپلرهای فیلتردار سترون (استریل) عاری از نوکلئازها
- میکروتیوب‌های ۵۰۰ میکرولیتری سترون

- دستکش
- پلیت ۹۶ خانه
- استریپ (شانه)
- برجسب آلومینیومی
- ماژیک

مزایای استفاده از کیت استخراج مغناطیسی 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 جدا نگهداری شود.

آماده‌سازی مواد و محلول‌های مورد نیاز

- آون روشن کرده تا دمای آن بر روی 56°C ثابت شود.
- محلول بید مغناطیسی را قبل از استفاده خوب ورتکس نمایید.
- 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 بیدهای مغناطیسی
نوع نمونه	نمونه ویروسی
منبع نمونه	مایعات بدن، سرم، پلاسما و ...
مقدار نمونه اولیه	۲۰۰ میکرولیتر
شیوه کار	دستی
بیومولکول استخراج شده	RNA
غلظت استخراج شده	متفاوت بر اساس نمونه ورودی

مراحل استخراج RNA به روش دستی

- برای استخراج RNA از نمونه مد نظر که مقدار آن ۲۰۰ میکرولیتر می‌باشد؛ مواد به ترتیب زیر اضافه شوند:
۱. میزان ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه، ۵۰۰ میکرولیتر از RI و ۳۰ میکرولیتر از RMB14 را به هر ویال اضافه کنید. دقت داشته باشید که قبل از اضافه کردن بید مغناطیسی به ویال، محلول آن را خوب بهم زده، و این عمل را برای ویال بعدی نیز تکرار کنید.
 ۲. در ویال‌ها را بسته و به مدت ۱ دقیقه ورتکس کنید.
 ۳. ویال‌ها را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای 56°C انکوبه کنید.
 ۴. ویال‌ها را خارج کرده و به مدت ۱ دقیقه ورتکس کنید. سپس داخل رک مغناطیسی چیده و پس از چند ثانیه محلول لیز شده را جدا کرده و دور بریزید.
 ۵. مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از محلول RII به هر یک از ویال‌های حاوی بید مغناطیسی جداسازی شده اضافه کرده، و به مدت ۱ دقیقه ورتکس کنید.
 ۶. ویال‌ها را دوباره در داخل رک مغناطیسی قرار داده و پس از چند ثانیه محلول شستشوی جدا شده از بید را دور بریزید.
 ۷. تمام ویال‌ها را به مدت ۱-۲ دقیقه در دمای 56°C انکوبه کنید تا نمونه‌ها خشک شود (دقت کنید که عمل خشک کردن بیش از حد انجام نشود).
 ۸. به هر کدام از ویال‌ها مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول REB اضافه کرده و به خوبی به مدت ۱ دقیقه ورتکس کنید. سپس با دمای 70°C به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه کنید (هر ۵ دقیقه یکبار ویال‌ها را ورتکس کنید).
 ۹. ویال‌ها را دوباره در داخل رک مغناطیسی قرار داده و پس از چند ثانیه محلول REB حاوی RNA را به ویال‌های دیگر منتقل کنید.
 ۱۰. نمونه‌های RNA استخراج شده را برای استفاده کوتاه مدت در دمای 4°C و برای استفاده بلند مدت در دمای 20°C - نگهداری کنید.

مراحل استخراج همزمان چند نمونه RNA در پلیت ۹۶ خانه به روش اتوماتیک و نیمه اتوماتیک

بیدهای مغناطیسی را قبل از استفاده خوب ورتکس کرده و در هنگام اضافه کردن بیدهای مغناطیسی به هر نمونه به دیسپرس بودن مناسب آن دقت شود.

برای استخراج RNA از نمونه که به مقدار ۲۰۰ میکرولیتر می‌باشد؛ مواد به ترتیب موارد زیر اضافه شوند:

۱. ۳۰ میکرولیتر از RMB14 را به هر چاهک (پلیت لیز/اتصال) حاوی RI (۵۰۰ میکرولیتر RI در هر چاهک از قبل پر شده) اضافه، با استفاده از شانه محتویات هر چاهک را کاملاً ترکیب کنید.
۲. میزان ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه (پلازما/ سرم / VTM) را به هر چاهک پلیت لیز/اتصال اضافه کنید.
۳. شانه ۹۶ تایی را داخل پلیت قرار داده، با بالا و پایین کردن آن به مدت ۳۰ ثانیه محتویات پلیت لیز/ اتصال را مخلوط کنید.
۴. پلیت لیز/ اتصال را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای 56°C انکوبه کنید.
۵. با استفاده از شانه به مدت ۱ دقیقه محتویات پلیت لیز/ اتصال را بهم بزنید.
۶. سپس شانه را بالا آورده، یک هد مغناطیسی ۹۶ شاخه‌ای را داخل شانه کنید و مجموع شانه و هد مغناطیسی را به آرامی داخل پلیت لیز/ اتصال وارد تا بیدهای مغناطیسی طی این فرایند توسط مجموع شانه و هد مغناطیسی جمع‌آوری شوند.
۷. بیدهای مغناطیسی جمع‌آوری شده توسط مجموع شانه و هد مغناطیسی را از پلیت لیز/ اتصال به پلیت حاوی RII (پلیت شست و شو که هر چاهک حاوی ۵۰۰ میکرولیتر RII از قبل پر شده است) انتقال دهید و در ادامه هد مغناطیسی را از داخل شانه خارج و با بالا و پایین کردن شانه ۹۶ تایی بیدهای مغناطیسی را در محلول RII، به مدت ۱ دقیقه شستشو دهید (توجه کنید که بیدهای مغناطیسی را بیش‌تر از ۲ دقیقه در بافر شستشو نگهداری نکنید).
۸. مشابه مرحله‌ی هفتم بیدهای مغناطیسی را از پلیت شستشو خارج کرده و مجموع شانه و هد مغناطیسی را به مدت ۱ الی ۲ دقیقه در خارج از پلیت شستشو نگه دارید تا بیدهای مغناطیسی خشک شوند (خشک شدن بیدها را تا زمانی که بر روی بیدهای مغناطیسی جمع‌آوری شده ترک مشاهده شود، طولانی نکنید).
۹. با استفاده از مجموع شانه و هد مغناطیسی، بیدهای مغناطیسی را به پلیت حاوی محلول REB (هر چاهک حاوی ۱۰۰ میکرولیتر REB بوده که از قبل پر شده اند) انتقال داده و بعد از جداسازی هد مغناطیسی، با استفاده از شانه ۹۶ تایی به مدت ۱ دقیقه بیدهای مغناطیسی را در محلول REB پخش کنید. سپس پلیت را به مدت ۲۰ دقیقه در 80°C انکوبه، و در آخر یک بار دیگر به مدت ۳۰ ثانیه با استفاده از شانه بیدهای مغناطیسی را در محلول REB پخش کنید.
۱۰. بیدهای مغناطیسی در مرحله‌ی آخر توسط مجموع شانه و هد مغناطیسی از پلیت حاوی REB خارج کرده و شانه ۹۶ تایی و بیدهای مغناطیسی متصل شده به آن را دور بیاندازید.
۱۱. محلول موجود در پلیت REB حاوی RNA خالص شده را ابتدا توسط برچسب آلومینیومی پوشش داده و سپس در دمای 20°C - نگهداری شود.

مراحل استخراج همزمان چند نمونه به صورت اتوماتیک

- در روش اتوماتیک، مراحل فوق توسط دستگاه انجام می‌شود.
- برای مشاهده نحوه استخراج به سایت شرکت به نشانی www.aminbic.ir مراجعه کنید و با تیم فنی در تماس باشید.

رفع مشکلات احتمالی

رفع مشکل	دلیل احتمالی	مشکل
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 می‌شود. از نمونه‌ای که بیش از یک بار ذوب و سپس منجمد شده است، برای استخراج استفاده نشود.	نگهداری نمونه ویروسی در شرایط دمایی نامناسب و یا ذوب و انجماد مکرر آن	کم بودن یا عدم وجود RNA در بافر رهاسازی
برای سوآپ: نمونه گیری تکرار شود. برای سرم و پلاسما: حجم بیشتری از نمونه را تغلیظ کنید و مجددا استخراج را تکرار کنید.	غلظت پایین ویروس در نمونه مورد استخراج	
برای افزایش کارایی رهاسازی، حتما پس از اضافه کردن بافر رهاسازی محلول را در دمای 80°C قرار داده و هر ۵ دقیقه یکبار به خوبی هم بزنید.	RNA به خوبی از بید مغناطیسی جدا نشده است.	
برای RNA، 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.	رهاسازی با حجم زیاد بافر رهاسازی	
فرآوری و استخراج نمونه به سرعت انجام 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 تخریب شده است.	
به بخش " کم بودن یا عدم وجود RNA در بافر رهاسازی " مراجعه شود.	کم بودن یا عدم وجود RNA در بافر رهاسازی	RNA از کارایی مناسبی در واکنش‌های آنزیمی بعدی برخوردار نیست.
دقت داشته باشید که پس از شستشو با بافر RI I و جدا کردن بید مغناطیسی، به منظور خشک شدن نمونه‌ها در دمای محیط ۵ دقیقه منتظر بمانید.	وارد شدن بافر شستشو در مرحله رهاسازی نهایی به دلیل خشک نشدن خوب بید مغناطیسی	
RNA استخراج شده را در حجم‌های مختلف در واکنش تکثیر استفاده کنید تا مناسب‌ترین حجم را بیابید.	کاهش حساسیت واکنش تکثیر (PCR)	

مشاهده رسوب در بافر RI	رسوب ممکن است به دلیل نگهداری در دمای پایین یا نگهداری طولانی مدت ایجاد شود.	بافر را در دمای ۵۶ °C قرار داده، و اطمینان حاصل شود که رسوب به طور کامل حل شده است.
موارد عمومی	آلودگی متقاطع بین نمونه‌ها	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 کنید. در آماده‌سازی محلول‌های کیت و در استفاده از آن‌ها دقت کنید و هر بار نوک سمپلر را تعویض کنید.

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

به دلیل استفاده از ویروس بیماری‌زا به عنوان نمونه مورد آزمایش، باید تمام پروتکل‌های ایمنی و بهداشتی در رابطه با این ویروس رعایت شود.

اطلاعات مربوط به هر ترکیب/ماده

بافر لیز (RI)

- مایع آتش‌زا؛ مایع و بخارات آن آتش‌گیر 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 می‌گردد.

بافر شستشو (RII)

- مایع آتش‌زا؛ مایع و بخارات آن آتش‌گیر 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 می‌گردد.

بافر رهاساز (REB)

- هیچ‌گونه 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 شسته شود.
- بلع: دهان 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 و 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 شست و شو داده و پس از شست و شو 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