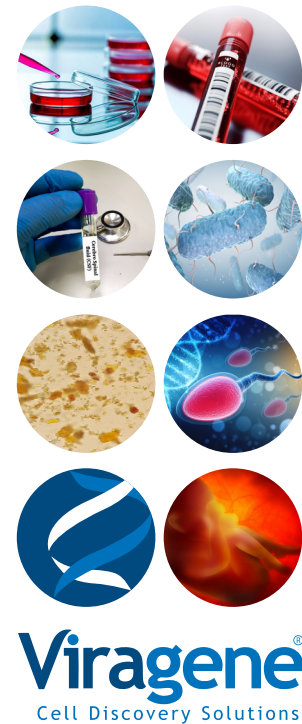


Total DNA/RNA Extraction Kit

Tissue, Bacteria, Plant, Soil, Insect, Cultured Cells, CSF, Amniotic Fluid, Saliva, Virus, Whole Blood, Buffy coat, Plasma, Fungia, Stool, Sperm

مواد و اجزا	تعداد/حجم	دمای نگهداری
RBC Lysis buffer	150 ml	2-8 °C
Vira Lysis	25 ml	
Vira virus Lysis	15 ml	
Vira Binding	10 ml	
Vira Wash I	25 ml	دمای محیط
Vira Wash II* (Concentrate)	10 ml	(15-25°C)
Vira El	5 ml	
Proteinase K Buffer	2 ml	
Proteinase K (Lyophilized)	40 mg	
RNA Carrier (Lyophilized)	2	
Spin Columns	50 pcs	-----
Collection Tubes	100 pcs	
Protocol	1	



Viragene®
Cell Discovery Solutions

کیت حاضر قابلیت استخراج DNA و RNA با خلوص و غلظت مناسب از نمونه‌های زیر را در کمترین زمان ممکن دارا می‌باشد:

- نمونه‌های حاوی ویروس شامل زگیل، ترشحات واژن، پلازما، سرم، سلول‌های کشت داده شده، سوپ‌های دهانی و سایر مایعات مخاطی
- نمونه پلازما، بافی کوت، خون تازه و یا منجمد کامل که حاوی ضدانعقادهایی چون EDTA یا سیترات می‌باشد.
- نمونه سلول‌های کشت داده شده چسبنده و غیر چسبنده (به شکل سوسپانسیون) از رده‌های مختلف سلولی
- نمونه متنوع بافت پستانداران همچون کبد، طحال، ریه و بافت‌های چربی
- میکروارگانیزم‌های مختلف موجود در خاک مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها
- میکروارگانیزم‌های مختلف موجود در انواع متفاوت نمونه‌های مدفوع
- نمونه باکتری گرم منفی و گرم مثبت
- سلول‌های اسپرم از مایع منی
- نمونه‌های متنوع گیاهان
- بافت‌های متنوع حشرات
- مایع مغزی - نخاعی
- مایع آمنیوتیک
- نمونه قارچ
- نمونه بزاق

نکات کلیدی:

- قبل از شروع استخراج، محتویات ویال حاوی Proteinase K Buffer را به ویال پودر لیوفیلیزه پروتئیناز K اضافه نموده و پس از چندین بار Invert آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه نمایید. برای جلوگیری از ذوب و انجماد مکرر آنزیم Proteinase K را به میزان واکنش‌های مورد نیاز الیکوت کنید. دمای نگهداری این آنزیم پس از اضافه نمودن بافر مربوطه به پودر لیوفیلیزه، ۲۰-۸ °C می‌باشد. در صورت نگهداری بلند مدت، پیشنهاد می‌شود در دمای ۲۰ °C - نگهداری شود.
- قبل از شروع استخراج، ۳۰۰ μl از محلول Vira El به RNA Carrier اضافه نمایید. دمای نگهداری RNA Carrier پس از انجام این فرآیند ۲۰ °C - می‌باشد.
- برای جلوگیری از ذوب و انجماد مکرر RNA Carrier، محلول را حداکثر در سه ویال به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر الیکوت کنید و در دمای درج شده بر روی میکروتیوب نگهداری نمایید.
- در صورت مشاهده رسوب در بافر Vira Wash I و Vira Virus Lysis به منظور حل شدن کامل رسوب، قبل از استفاده، بافر را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵°C انکوبه نمایید.
- قبل از استفاده، مقدار مورد نیاز از محلول Vira El به ازای هر واکنش در دمای ۶۵ °C انکوبه شود.
- قبل از شروع فرایند استخراج، تمامی بطری‌های موجود در کیت را چندین بار به آرامی invert نمایید.
- قبل از شروع فرایند استخراج، ۴۰ ml اتانول مطلق به بطری Vira Wash II اضافه نمایید.

موارد مورد نیاز:

- آنزیم Lysozyme با غلظت ۵۰ mg/ml (جهت استخراج باکتری گرم مثبت از خاک، قابل سفارش از شرکت ویراژن آکام)
- آنزیم RNase A با غلظت ۱۰ mg/ml (در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص، قابل سفارش از شرکت ویراژن آکام)
- آنزیم DNase I (در صورت نیاز به RNA خالص، قابل سفارش از شرکت ویراژن آکام)
- Water Bath یا Heating Block
- میکروتیوب ۱.۵ ml استریل
- اتانول مطلق (۹۹٪)
- β-mercaptoethanol
- هاون و نیتروژن مایع
- سانتریفیوژ یخچال دار
- ایزوپروپانول
- سرنگ ۲۰۵ ml

Tissue DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

بافت جانوری (کبد، موش، شش، قلب، طحال، ...): ۲۵-۱۰۰ mg

دستورالعمل:

- به ازای هر نمونه ۵۰۰ μl از محلول Vira Lysis را در یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل و در دمای ۶۵°C تا زمان آماده سازی نمونه انکوبه نمایید. در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.
- ۱. نمونه را در هاون و به کمک نیتروژن مایع به صورت پودر در آورده و همگن نمایید، سپس به میکروتیوب حاوی مخلوط Vira Lysis (که از قبل انکوبه کرده اید) اضافه کنید. (جهت جلوگیری از تخریب اسید نوکلئیک، این مرحله را با سرعت و بدون وقفه انجام دهید).
- توجه: در صورت عدم دسترسی به نیتروژن مایع، می توانید با کوبیدن نمونه و یا با استفاده از تیغ، نمونه ها را به قطعات کوچک تر و همگن تبدیل کنید. توجه داشته باشید این مرحله در بازدهی کیت تأثیرگذار خواهد بود.
- ۲. میکروتیوب را به مدت ۱۵ ثانیه Vortex کنید و در دمای ۶۵°C به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کنید. در طول این مدت زمان هر ۲ دقیقه میکروتیوب را Spin و Vortex نمایید.
- ۳. میکروتیوب را به مدت ۳ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm و در دمای ۴°C، سانتریفیوژ نمایید.
- ۴. سوپرناتانت را با احتیاط و به آرامی برداشته و به یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل انتقال دهید.
- ۵. ۵۰۰ μl ایزوپروپانول به میکروتیوب حاوی سوپرناتانت اضافه و به خوبی پیپتاژ نمایید تا مخلوطی همگن به دست آید.
- ۶. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.
- توجه: ستون-کالکشن حاوی نمونه را برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط (۱۵-۲۵°C) انکوبه نمایید.
- ۷. ستون-کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. سپس محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. در صورتی که حجم نمونه بیش از ۷۰۰ μl باشد، محتویات را مجدداً داخل همان ستون ریخته و سانتریفیوژ نمایید تا تمامی حجم نمونه مورد استفاده قرار گیرد.
- توجه: در صورت استخراج RNA می توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.
- ۸. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
- ۹. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
- ۱۰. مرحله ۹ را مجدداً تکرار نمایید.
- ۱۱. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۲ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
- ۱۲. کالکشن را دور بیاندازید و ستون را داخل میکروتیوب ۱.۵ ml استریل قرار دهید.
- ۱۳. ۵۰۰ μl از محلول Vira El به مرکز ستون اضافه کنید، درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

*در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

*در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده در دمای ۲۰°C نگهداری کنید.

Plant DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

● نمونه تازه: ۲۰-۱۰۰ mg

دستورالعمل:

- به ازای هر نمونه، ۵۰۰ μl از محلول Vira Lysis را با ۱۰ μl β-mercaptoethanol در یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل بخوبی مخلوط نموده و در دمای ۶۵°C تا زمان آماده سازی نمونه انکوبه نمایید. در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.
- ۱. نمونه را در هاون و به کمک نیتروژن مایع بصورت پودر در آورده و همگن نمایید، سپس به میکروتیوب حاوی مخلوط Vira Lysis و β-mercaptoethanol (که از قبل انکوبه کرده اید) اضافه کنید. (جهت جلوگیری از تخریب اسید نوکلئیک، این مرحله را با سرعت و بدون وقفه انجام دهید).
- توجه: در صورت عدم دسترسی به نیتروژن مایع، می توانید با کوبیدن نمونه و یا با استفاده از تیغ، نمونه ها را به قطعات کوچک تر و همگن تبدیل کنید. توجه داشته باشید این مرحله در بازدهی کیت تأثیرگذار خواهد بود.
- ۲. میکروتیوب را به مدت ۱۵ ثانیه Vortex کنید و در دمای ۶۵°C به مدت ۵ دقیقه انکوبه کنید. در طول این مدت زمان ۳ الی ۴ بار Spin و Vortex نمایید.
- ۳. میکروتیوب را به مدت ۳ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm و در دمای ۴°C، سانتریفیوژ نمایید.
- ۴. سوپرناتانت را با احتیاط و به آرامی برداشته و به یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل انتقال دهید.
- ۵. ۵۰۰ μl ایزوپروپانول به میکروتیوب حاوی سوپرناتانت اضافه و به خوبی پیپتاژ نمایید تا مخلوطی همگن به دست آید.
- ۶. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.
- توجه: ستون-کالکشن حاوی نمونه را برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط (۱۵-۲۵°C) انکوبه نمایید.
- ۷. ستون-کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. سپس محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. در صورتی که حجم نمونه بیش از ۷۰۰ μl باشد، محتویات را مجدداً داخل همان ستون ریخته و سانتریفیوژ نمایید تا تمامی حجم نمونه مورد استفاده قرار گیرد.
- توجه: در صورت استخراج RNA می توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.

۸. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
 ۹. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
 ۱۰. مرحله ۹ را مجدداً تکرار نمایید.
 ۱۱. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۲ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
 ۱۲. کالکشن را دور بیانداژید و ستون را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.
 ۱۳. ۵۰ μl از محلول Vira El به مرکز ستون اضافه کنید، درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
- * در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰°C نگهداری کنید.

Soil DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

خاک تازه و مرطوب : ۲۵-۵۰ mg

دستورالعمل:

- به ازای هر نمونه، ۱۰۰ μl از محلول Vira Lysis را با ۱۰۰ μl β-mercaptoethanol در یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل بخوبی مخلوط نموده و در دمای ۶۵°C تا زمان آماده سازی نمونه انکوبه نمایید. در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ μl RNA Carrier اضافه نمایید.
 - ۱. نمونه را در هاون و به کمک نیتروژن مایع بصورت پودر در آورده و همگن نمایید، سپس به میکروتیوب حاوی مخلوط Vira Lysis و β-mercaptoethanol (که از قبل انکوبه کرده اید) اضافه کنید. (جهت جلوگیری از تخریب اسید نوکلئیک، این مرحله را با سرعت و بدون وقفه انجام دهید.)
توجه: در صورت استخراج باکتری گرم مثبت از نمونه خاک، ۱۰ μl از آنزیم Lysozyme با غلظت ۵۰ mg/ml را به میکروتیوب اضافه نمایید و ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷°C انکوبه کنید. در مدت زمان انکوباسیون هر ۱۰ دقیقه میکروتیوب را Spin و Vortex نمایید.
 - ۲. میکروتیوب را به مدت ۱۵ ثانیه Vortex کنید و در دمای ۶۵°C به مدت ۵ دقیقه انکوبه کنید. در طول این مدت زمان ۳ الی ۴ بار Spin و Vortex نمایید.
 - ۳. میکروتیوب را به مدت ۳ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm و در دمای ۴°C، سانتریفیوژ نمایید.
 - ۴. سوپرناتانت را با احتیاط و به آرامی برداشته و به یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل انتقال دهید.
 - ۵. ۵۰۰ μl ایزوپروپانول به میکروتیوب حاوی سوپرناتانت اضافه و به خوبی پیتاژ نمایید تا مخلوطی همگن به دست آید.
 - ۶. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.
توجه: ستون کالکشن حاوی نمونه را برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط (۱۵-۲۵°C) انکوبه نمایید.
 - ۷. ستون کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. سپس محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. در صورتی که حجم نمونه بیش از ۷۰۰ μl باشد، محتویات را مجدداً داخل همان ستون ریخته و سانتریفیوژ نمایید تا تمامی حجم نمونه مورد استفاده قرار گیرد.
توجه: در صورت استخراج RNA می‌توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.
 - ۸. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
 - ۹. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
 - ۱۰. مرحله ۹ را مجدداً تکرار نمایید.
 - ۱۱. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۲ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
 - ۱۲. کالکشن را دور بیانداژید و ستون را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.
 - ۱۳. ۵۰ μl از محلول Vira El به مرکز ستون اضافه کنید، درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
- * در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰°C نگهداری کنید.

Insect DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

- نمونه تازه : ۱۰-۳۰ mg
- نمونه خشک یا لیوفلیزه : ۱۵-۲۵ mg

دستورالعمل:

● به ازای هر نمونه، ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ از محلول Vira Lysis را در یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل و در دمای ۶۵°C تا زمان آماده سازی نمونه انکوبه نمایید. در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.

۱. نمونه را در هاون و به کمک نیتروژن مایع بصورت پودر در آورده و همگن نمایید، سپس به میکروتیوب حاوی مخلوط Vira Lysis (که از قبل انکوبه کرده اید) اضافه کنید. (جهت جلوگیری از تخریب اسید نوکلئیک، این مرحله را با سرعت و بدون وقفه انجام دهید.)

توجه: در صورت عدم دسترسی به نیتروژن مایع، می توانید با کوبیدن نمونه و یا با استفاده از تیغ، نمونه ها را به قطعات کوچک تر و همگن تبدیل کنید. توجه داشته باشید این مرحله در بازدهی کیت تاثیرگذار خواهد بود.

۲. میکروتیوب را به مدت ۱۵ ثانیه Vortex کنید و در دمای ۶۵°C به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه کنید. در طول این مدت زمان ۳ الی ۴ بار Spin و Vortex نمایید.

۳. میکروتیوب را به مدت ۳ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm و در دمای ۴°C، سانتریفیوژ نمایید.

۴. سوپرناتانت را با احتیاط و به آرامی برداشته و به یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل انتقال دهید.

۵. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ ایزوپروپانول به میکروتیوب حاوی سوپرناتانت اضافه و به خوبی پیپتاژ نمایید تا مخلوطی همگن به دست آید.

۶. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.

توجه: ستون-کالکشن حاوی نمونه را برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط (۲۵-۱۵°C) انکوبه نمایید.

۷. ستون-کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. سپس محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. در صورتی که حجم نمونه بیش از ۷۰۰ الی ۱۰۰۰ باشد، محتویات را مجدداً داخل همان ستون ریخته و سانتریفیوژ نمایید تا تمامی حجم نمونه مورد استفاده قرار گیرد.

توجه: در صورت استخراج RNA می توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.

۸. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۹. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۱۰. مرحله ۹ را مجدداً تکرار نمایید.

۱۱. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۲ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

۱۲. کالکشن را دور بیاندازید و ستون را داخل میکروتیوب ۱.۵ ml استریل قرار دهید.

۱۳. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ از محلول Vira El به مرکز ستون اضافه کنید، درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

* در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase I طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* در صورت نیاز به DNA ژئومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰-۰°C نگهداری کنید.

Cultured Cells DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

سلول های کشت داده شده چسبنده و غیرچسبنده (به شکل سوسپانسیون) از رده های مختلف سلولی: ۱۰^۴ الی ۱۰^۶ سلول

دستورالعمل:

● به ازای هر نمونه ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ از محلول Lysis را در یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل در دمای ۶۵°C تا زمان آماده سازی نمونه انکوبه نمایید. در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.

* در صورت استفاده از سلول های چسبنده، لازم است در ابتدا با استفاده از Trypsin-EDTA آنها را به شکل سوسپانسیون درآورید.

۱. سوسپانسیون حاوی سلول های کشت داده شده را به مدت ۵ دقیقه با دور ۷۰۰۰ rpm سانتریفیوژ نمایید. سپس سوپرناتانت را با احتیاط دور بریزید و به رسوب باقی مانده ۲۰۰ الی ۳۰۰ محلول PBS 1x اضافه نموده و بخوبی پیپتاژ نمایید تا کاملاً همگن شود.

۲. به میکروتیوب حاوی نمونه، ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ از محلول Lysis Buffer (که از قبل انکوبه کرده اید) اضافه کنید و به مدت ۱۵ ثانیه Vortex کنید. سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵°C انکوبه کنید. در طول این مدت زمان، میکروتیوب را ۳ الی ۴ بار Spin و Vortex نمایید.

۳. میکروتیوب را به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm و در دمای ۴°C، سانتریفیوژ نمایید.

۴. سوپرناتانت را با احتیاط و به آرامی برداشته و به یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل انتقال دهید.

۵. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ ایزوپروپانول به میکروتیوب حاوی سوپرناتانت اضافه و به خوبی پیپتاژ نمایید تا مخلوطی همگن به دست آید.

۶. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.

توجه: ستون-کالکشن حاوی نمونه را برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط (۲۵-۱۵°C) انکوبه نمایید.

۷. ستون و کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. سپس محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. در صورتی که حجم نمونه بیش از ۷۰۰ الی ۱۰۰۰ باشد، محتویات را مجدداً داخل همان ستون ریخته و سانتریفیوژ نمایید تا تمامی حجم نمونه مورد استفاده قرار گیرد.

توجه: در صورت استخراج RNA می توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.

۸. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ محلول Wash Solution I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۹. ۵۰۰ μl محلول Wash Solution II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید.

۱۰. مرحله ۹ را مجدداً تکرار نمایید.

۱۱. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

۱۲. کالکشن را دور بیانداژید و ستون را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.

۱۳. ۵۰-۱۰۰ μl از محلول Elution Buffer به مرکز ستون اضافه کنید، درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

* در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰°C نگهداری کنید.

CSF DNA/RNA Extraction kit

میزان نمونه مورد نیاز:

مایع مغزی نخاعی: ۵۰۰ μl

دستورالعمل:

توجه: قبل از شروع استخراج، محتویات ویال حاوی Proteinase K Buffer را به ویال پودر لیوفیلیزه پروتئیناز K اضافه نموده و پس از چندین بار Invert آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه نمایید. دمای نگهداری آنزیم پروتئیناز K پس از انجام این فرآیند در دمای ۲۸°C می باشد.

۱. ۵۰۰ μl از نمونه را به یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل انتقال دهید.

۲. ۲۰۰ μl از Vira Binding را به میکروتیوب اضافه نموده و پس از پیپتاژ کافی به مدت ۱۰ ثانیه Vortex نمایید.

۳. ۴۰۰ μl آنزیم Proteinase K اضافه نموده و ۲ الی ۳ بار میکروتیوب را Vortex و Spin کرده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵۵°C انکوبه نمایید. در طی مدت زمان انکوباسیون، میکروتیوب را ۳ الی ۴ بار Vortex و Spin نمایید.

توجه: در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.

۴. ۱۰۰ μl ایزوپروپانول اضافه و به خوبی پیپتاژ نمایید تا مخلوط کاملاً همگن شود، سپس آن را به مدت ۵ ثانیه Vortex و Spin نمایید.

۵. محتویات میکروتیوب حاوی نمونه را به آرامی به ستون - کالکشن انتقال دهید.

توجه: برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط (۲۵-۱۵°C) ستون - کالکشن حاوی نمونه را انکوبه نمایید.

۶. ستون - کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. محتویات داخل کالکشن را دور ریخته و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. توجه: در صورت استخراج RNA می توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.

۷. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۸. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۹. مرحله ۸ را مجدداً تکرار نمایید.

۱۰. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

۱۱. کالکشن را دور بیانداژید و ستون استخراج را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.

۱۲. ۵۰-۱۰۰ μl از محلول Vira El (که در ابتدا در دمای ۶۵°C انکوبه نموده اید) به مرکز ستون اضافه کنید. درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

* در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰°C نگهداری کنید.

Amniotic Fluid Extraction kit

میزان نمونه مورد نیاز:

مایع آمنیوتیک: ۲-۸ ml (حاوی حداقل تعداد ۱۰^۶ سلول)

دستورالعمل:

توجه: قبل از شروع استخراج، محتویات ویال حاوی Proteinase K Buffer را به ویال پودر لیوفیلیزه پروتئیناز K اضافه نموده و پس از چندین بار Invert آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه نمایید. دمای نگهداری آنزیم پروتئیناز K پس از انجام این فرآیند در دمای ۲۸°C می باشد.

۱. ۲-۸ ml (حداقل تعداد ۱۰^۶ سلول) مایع آمنیوتیک را به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ نمایید.

۲. سوپرناتانت را با احتیاط دور بریزید و به رسوب حاصل، ۱۵۰ μl محلول PBS 1x اضافه و به خوبی پیپتاژ نمایید تا کاملاً همگن شود.

۳. ۲۰۰ μl از Vira Binding را به میکروتیوب اضافه نموده و پس از پیپتاژ کافی به مدت ۱۰ ثانیه Vortex نمایید.

۴. ۴۰۰ μl آنزیم Proteinase K اضافه نموده و ۲ الی ۳ بار میکروتیوب را Vortex و Spin کرده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵۶°C انکوبه نمایید. در طی مدت زمان انکوباسیون، میکروتیوب را ۳ الی ۴ بار Vortex و Spin نمایید.

توجه: در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.

۵. امل ۱۰۰ ایزوپروپانول اضافه و به خوبی پیتاژ نمایید تا مخلوط کاملاً همگن شود، سپس آن را به مدت ۵ ثانیه Spin و Vortex نمایید.
۶. محتویات میکروتیوب حاوی نمونه را به آرامی به ستون-کالکشن انتقال دهید.
توجه: برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط (۲۵-۱۵ °C) ستون-کالکشن حاوی نمونه را انکوبه نمایید.
۷. ستون - کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. محتویات داخل کالکشن را دور ریخته و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید.
توجه: در صورت استخراج RNA می‌توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.
۸. امل ۵۰۰ محلول I Vira Wash را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید.
محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
۹. امل ۵۰۰ محلول II Vira Wash را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
۱۰. مرحله ۹ را مجدداً تکرار نمایید.
۱۱. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
۱۲. کالکشن را دور بیاندازید و ستون استخراج را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.
۱۳. امل ۵۰-۱۰۰ از محلول Vira El (که در ابتدا در دمای ۶۵ °C انکوبه نموده اید) به مرکز ستون اضافه کنید. درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید.
سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
*در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase I طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
*در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰ °C نگهداری کنید.

Saliva DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

نمونه بزاق دهان: ۱۰-۵/۰ ml

دستورالعمل:

- توجه: قبل از شروع استخراج، محتویات ویال حاوی Proteinase K Buffer را به ویال پودر لیوفیلیزه پروتئیناز K اضافه نموده و پس از چندین بار Invert آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه نمایید.
دمای نگهداری آنزیم پروتئیناز K پس از انجام این فرآیند در دمای ۲۰-۲۸ °C می‌باشد.
۱. امل ۱۰-۵/۰ از نمونه ی مورد نظر را به یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل انتقال دهید.
۲. میکروتیوب حاوی نمونه را به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ rpm در دمای محیط (۲۵-۱۵ °C) سانتریفیوژ کرده و شکل گیری رسوب را بررسی نمایید، سپس سوپرناتانت را دور ریخته و رسوب را نگه دارید.
۳. امل ۲۰۰ از Vira Binding را به میکروتیوب اضافه نموده و پس از پیتاژ کافی به مدت ۱۰ ثانیه Vortex نمایید.
۴. امل ۴۰ آنزیم Proteinase K اضافه نموده و ۲ الی ۳ بار میکروتیوب را Spin و Vortex کرده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵۵ °C انکوبه نمایید. در طی مدت زمان انکوباسیون، میکروتیوب را ۳ الی ۴ بار Spin و Vortex نمایید.
- توجه: در صورت استخراج RNA به محلول مقدار امل ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.
۵. امل ۱۰۰ ایزوپروپانول اضافه و به خوبی پیتاژ نمایید تا مخلوط کاملاً همگن شود، سپس آن را به مدت ۵ ثانیه Spin و Vortex نمایید.
۶. محتویات میکروتیوب حاوی نمونه را به آرامی به ستون-کالکشن انتقال دهید.
توجه: برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط (۲۵-۱۵ °C) ستون-کالکشن حاوی نمونه را انکوبه نمایید.
۷. ستون - کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. محتویات داخل کالکشن را دور ریخته و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید.
توجه: در صورت استخراج RNA می‌توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.
۸. امل ۵۰۰ محلول I Vira Wash را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
۹. امل ۵۰۰ محلول II Vira Wash را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید.
محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
۱۰. مرحله ۹ را مجدداً تکرار نمایید.
۱۱. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
۱۲. کالکشن را دور بیاندازید و ستون استخراج را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.
۱۳. امل ۵۰-۱۰۰ از محلول Vira El (که در ابتدا در دمای ۶۵ °C انکوبه نموده اید) به مرکز ستون اضافه کنید. درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید.
سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
*در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase I طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
*در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰ °C نگهداری کنید.

Gram Negative Bacteria DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز: 10^8 الی 10^9 سلول باکتری گرم منفی کشت داده شده (۵ml)
دستورالعمل:

● به ازای هر نمونه، ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ μ l از محلول Vira Lysis را در یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل دردمای 65°C تا زمان آماده سازی نمونه انکوبه نمایید.

۱. پس از کشت Overnight باکتری مورد نظر، آن را به مدت ۵ دقیقه با دور ۷۰۰۰ rpm سانتریفیوژ نمایید.

۲. سوپرناتانت را با احتیاط دوربریزید.

۳. به میکروتیوب حاوی نمونه، ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ μ l از محلول Vira Lysis (که از قبل انکوبه کرده اید) اضافه کنید و به مدت ۱۵ ثانیه Vortex کنید. سپس به مدت ۵ دقیقه دردمای 65°C انکوبه کنید. در طول این مدت زمان، میکروتیوب را ۳ الی ۴ بار Spin و Vortex نمایید.
توجه: در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.

۴. میکروتیوب را به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm و دردمای 4°C ، سانتریفیوژ نمایید.

۵. سوپرناتانت را با احتیاط و به آرامی برداشته و به یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل انتقال دهید.

۶. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ μ l ایزوپروپانول به میکروتیوب اضافه و به خوبی پیپتاژ نمایید تا مخلوطی همگن به دست آید.

۷. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.
توجه: ستون-کالکشن حاوی نمونه را برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه دردمای محیط ($15-25^{\circ}\text{C}$) انکوبه نمایید.

۸. ستون-کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm دردمای محیط سانتریفیوژ نمایید. سپس محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. در صورتی که حجم نمونه بیش از ۷۰۰ μ l باشد، محتویات را مجدداً داخل همان ستون ریخته و سانتریفیوژ نمایید تا تمامی حجم نمونه مورد استفاده قرار گیرد.
توجه: در صورت استخراج RNA می‌توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.

۹. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ μ l محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm دردمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۱۰. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ μ l محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm دردمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۱۱. مرحله ۱۰ را مجدداً تکرار نمایید.

۱۲. ستون -کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm دردمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

۱۳. کالکشن را دور بیندازید و ستون را داخل میکروتیوب ۱.۵ ml استریل قرار دهید.

۱۴. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ μ l از محلول Vira El به مرکز ستون اضافه کنید، درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه دردمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm دردمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

* در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase I طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* در صورت نیاز به DNA ژئومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده را دردمای $20-30^{\circ}\text{C}$ نگهداری کنید.

Gram Positive Bacteria DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

10^8 الی 10^9 سلول باکتری گرم مثبت کشت داده شده (۵ml)

دستورالعمل:

● به ازای هر نمونه، ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ μ l از محلول Lysis را با ۱۰۰ μ l β -mercaptoethanol و ۱.۵ ml استریل بخوبی مخلوط نموده و دردمای 65°C تا زمان آماده سازی نمونه انکوبه نمایید. در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.

۱. پس از کشت Overnight باکتری مورد نظر، آن را به مدت ۵ دقیقه با دور ۷۰۰۰ rpm سانتریفیوژ نمایید.

۲. ۲۵ μ l آنزیم Lysozyme (با غلظت ۵۰ mg/ml) را به میکروتیوب اضافه کنید و خوب پیپتاژ کنید. سپس به مدت ۱۵ دقیقه دردمای 37°C انکوبه نمایید. در طی مدت زمان انکوباسیون، میکروتیوب را هر ۵ دقیقه Vortex و Spin نمایید.

۳. مخلوط Lysis و β -mercaptoethanol (که از قبل انکوبه کرده اید) را به میکروتیوب حاوی نمونه اضافه نمایید.

۴. میکروتیوب را به خوبی Vortex نموده و دردمای 65°C به مدت ۵ دقیقه انکوبه کنید. در طول این مدت زمان، میکروتیوب را ۳ الی ۴ بار Spin و Vortex نمایید.

۵. میکروتیوب را به مدت ۳ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm و دردمای 4°C ، سانتریفیوژ نمایید.

۶. سوپرناتانت را با احتیاط و به آرامی برداشته و به یک میکروتیوب ۱.۵ ml استریل انتقال دهید.

۷. ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ μ l ایزوپروپانول به میکروتیوب اضافه و به خوبی پیپتاژ نمایید تا مخلوطی همگن به دست آید.

۸. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.
توجه: ستون-کالکشن حاوی نمونه را برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه دردمای محیط ($15-25^{\circ}\text{C}$) انکوبه نمایید.

۹. ستون-کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm دردمای محیط سانتریفیوژ نمایید. سپس محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. در صورتی که حجم نمونه بیش از ۷۰۰ μ l باشد، محتویات را مجدداً داخل همان ستون ریخته و سانتریفیوژ نمایید تا تمامی حجم نمونه مورد استفاده قرار گیرد.
توجه: در صورت استخراج RNA می‌توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.

۱۰. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
 ۱۱. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
 ۱۲. مرحله ۱۱ را مجدداً تکرار نمایید.
 ۱۳. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
 ۱۴. کالکشن را دور بیاندازید و ستون را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.
 ۱۵. ۵۰ μl از محلول Vira El به مرکز ستون اضافه کنید، درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
- * در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰°C نگهداری کنید.

Plasma DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

پلاسما: ۵۰۰ μl

دستورالعمل:

- توجه: قبل از شروع استخراج، محتویات ویال حاوی Proteinase K Buffer را به ویال پودر لیوفیلیزه پروتئیناز K اضافه نموده و پس از چندین بار Invert آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه نمایید. دمای نگهداری آنزیم پروتئیناز K پس از انجام این فرآیند در دمای ۲۰°C می باشد.
۱. ۵۰۰ μl از نمونه را به یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل انتقال دهید.
 ۲. ۲۰۰ μl از Vira Binding را به میکروتیوب اضافه نموده و پس از پیپتاژ کافی به مدت ۱۰ ثانیه Vortex نمایید.
 ۳. ۱۴۰ μl آنزیم Proteinase K اضافه نموده و ۲ الی ۳ بار میکروتیوب را Spin و Vortex کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۶°C انکوبه نمایید. در طی مدت زمان انکوباسیون، میکروتیوب را ۳ الی ۴ بار Spin و Vortex نمایید.
 - توجه: در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.
 ۴. ۱۰۰ μl ایزوپروپانول اضافه و به خوبی پیپتاژ نمایید تا مخلوط کاملاً همگن شود، سپس آن را به مدت ۵ ثانیه Spin و Vortex نمایید.
 ۵. محتویات میکروتیوب حاوی نمونه را به آرامی به ستون - کالکشن انتقال دهید.
 - توجه: برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط (۲۵-۱۵°C) ستون - کالکشن حاوی نمونه را انکوبه نمایید.
 ۶. ستون - کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. محتویات داخل کالکشن را دور ریخته و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. توجه: در صورت استخراج RNA می توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.
 ۷. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
 ۸. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
 ۹. مرحله ۸ را مجدداً تکرار نمایید.
 ۱۰. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
 ۱۱. کالکشن را دور بیاندازید و ستون استخراج را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.
 ۱۲. ۵۰-۱۰۰ μl از محلول Vira El (که در ابتدا در دمای ۶۵°C انکوبه نموده اید) به مرکز ستون اضافه کنید. درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
- * در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase I طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰°C نگهداری کنید.

whole Blood DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

خون پستانداران: ۱ ml - ۵۰۰ μl

دستورالعمل:

- برای هر نمونه ۵۰۰ μl از محلول Vira Lysis را در یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل و در دمای ۶۵°C تا زمان آماده سازی نمونه انکوبه نمایید. توجه داشته باشید که این ترکیب همواره به صورت تازه آماده و قبل از شروع هر استخراج تهیه شود.
- قبل از شروع فرآیند، میکروتیوب حاوی نمونه را Vortex نکنید.
- ۱. ۱ ml - ۵۰۰ μl نمونه را بر روی یخ به یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل اضافه نمایید.

۲. ۱ ml از محلول RBC Lysis Buffer (1x) را به میکروتیوب اضافه کرده و آن را به مدت ۱۰ دقیقه متناوباً invert نمایید.
۳. میکروتیوب را به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۵۰۰ rpm در دمای ۴°C سانتریفیوژ نمایید.
۴. سوپرناتانت یا محلول رویی شفاف و قرمز رنگ را به دقت جدا کرده و دور بریزید.
توجه: در صورت عدم مشاهده رسوب سفید رنگ، مقدار کمی از سوپرناتانت را در میکروتیوب نگه دارید.
۵. مجدداً ۱ ml از محلول RBC Lysis Buffer (1x) را به رسوب سفید رنگ بر روی یخ، در میکروتیوب اضافه نموده و با انگشت به آهستگی به آن ضربه بزنید تا رسوب کاملاً در محلول حل شود. آن را به مدت ۵ دقیقه متناوباً invert نمایید.
توجه: میکروتیوب حاوی نمونه را Vortex نکنید.
۶. میکروتیوب را به مدت ۵ دقیقه با دور ۴۵۰۰ rpm در دمای ۴°C سانتریفیوژ نمایید.
۷. سوپرناتانت یا محلول رویی قرمز رنگ را به دقت جدا نموده و دور بریزید.
توجه: رسوب تشکیل شده در این مرحله ممکن است به خوبی قابل رویت نباشد، بنابراین با دقت سوپرناتانت را دور بریزید.
۸. از مرحله ۵ مجدداً تکرار نمایید.
۹. ۵۰۰ μl از مخلوط Vira Lysis (که در ابتدای فرایند تهیه کرده اید) به نمونه اضافه کنید و به مدت ۱۵ ثانیه آن را Vortex نمایید.
توجه: در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ μl RNA Carrier اضافه نمایید.
۱۰. محلول را به درون سرنگ کشیده و سپس محتویات آن را با فشار به دیواره میکروتیوب، تخلیه نمایید. ۵ الی ۱۰ بار این کار را تکرار کنید. سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵°C انکوبه کنید. در طول این مدت زمان، میکروتیوب را ۳ الی ۴ بار Sping و Vortex نمایید.
۱۱. ۳۰۰ μl اتانول مطلق اضافه نموده و سپس محتویات میکروتیوب را به آهستگی پیتاژ نمایید.
۱۲. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.
۱۳. ستون - کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط (۱۵-۲۵°C) سانتریفیوژ نمایید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید.
توجه: در صورت استخراج RNA می‌توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.
۱۴. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
۱۵. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
۱۶. مرحله ۱۵ را مجدداً تکرار نمایید.
۱۷. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
۱۸. کالکشن را دور انداخته و ستون استخراج را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.
۱۹. ۵۰-۱۰۰ μl از محلول Vira El در مرکز ستون اضافه کنید. درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

*در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase I طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

*در صورت نیاز به DNA ژئومیک خالص از آنزیم DNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰°C نگهداری کنید.

Buffy Coat DNA/RNA Extraction Kit

دستورالعمل:

- به ازای هر نمونه ۵۰۰ μl از محلول Vira Lysis را در یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل و در دمای ۶۵°C تا زمان آماده سازی نمونه انکوبه نمایید.
توجه داشته باشید که این ترکیب همواره به صورت تازه آماده و قبل از شروع هر استخراج تهیه شود.
- قبل از شروع فرایند میکروتیوب حاوی نمونه را Vortex نکنید.
- ۱. نمونه را بر روی یخ به یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل اضافه نمایید.
- ۲. در صورتی که نمونه حاوی مقداری از خون شده است، ۱ ml از محلول RBC Lysis Buffer (1x) را به میکروتیوب اضافه کرده و آن را به مدت ۱۰ دقیقه متناوباً invert نمایید.
- ۳. میکروتیوب را به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۵۰۰ rpm در دمای ۴°C سانتریفیوژ نمایید.
- ۴. سوپرناتانت یا محلول رویی قرمز رنگ را به دقت جدا نموده و دور بریزید.
توجه: رسوب تشکیل شده در این مرحله ممکن است به خوبی قابل رویت نباشد، بنابراین با دقت سوپرناتانت را دور بریزید.
- ۵. ۵۰۰ μl از مخلوط Vira Lysis (که در ابتدای فرایند تهیه کرده اید) به نمونه اضافه کنید و به مدت ۱۵ ثانیه آن را Vortex نمایید.
توجه: در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ μl RNA Carrier اضافه نمایید.
- ۶. محلول را به درون سرنگ کشیده و سپس محتویات آن را با فشار به دیواره میکروتیوب، تخلیه نمایید. ۵ الی ۱۰ بار این کار را تکرار کنید. سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵°C انکوبه کنید. در طول این مدت زمان، میکروتیوب را ۳ الی ۴ بار Sping و Vortex نمایید.
- ۷. ۳۰۰ μl اتانول مطلق اضافه نموده و سپس محتویات میکروتیوب را به آهستگی پیتاژ نمایید.
- ۸. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.
- ۹. ستون - کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط (۱۵-۲۵°C) سانتریفیوژ نمایید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید.
توجه: در صورت استخراج RNA می‌توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase I را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.

۱۰. اِم ۵۰۰ محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۱۱. اِم ۵۰۰ محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۱۲. مرحله ۱۱ را مجدداً تکرار نمایید.

۱۳. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

۱۴. کالکشن را دور انداخته و ستون استخراج را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.

۱۵. اِم ۱۰۰-۵۰ از محلول Vira El را به مرکز ستون اضافه کنید. درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

* در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase I طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* در صورت نیاز به DNA ژئومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰°C نگهداری کنید.

Viral DNA Extraction Kit

مقدار (μl) RNA Carrier	مقدار Vira Virus lysis (ml)	تعداد نمونه	جدول ۱: نحوه آماده سازی Carrier-Lysis Solution
12	0.3 (300 μl)	1	به ازای هر نمونه، اِم ۳۰۰ از Vira Virus Lysis و اِم ۱۲ از RNA Carrier استفاده شود. به مخلوط حاصل Carrier-Lysis Solution گفته می شود.
120	3	10	
240	6	20	
360	9	30	
480	12	40	Carrier-Lysis Solution باید همواره به صورت تازه و قبل از انجام آزمایش تهیه شود.
600	15	50	

میزان نمونه مورد نیاز:

اِم ۲۰۰ از نمونه های یوکاریوتی شامل خون، پلاسما، سرم و سایر مایعات بدن.

دستورالعمل:

* قبل از شروع فرایند استخراج، Carrier-Lysis Solution را طبق جدول ۱ تهیه فرمایید.

* قبل از شروع استخراج، محتویات ویال حاوی Proteinase K Buffer را به ویال پور لیوفیلیزه پروتئیناز K اضافه نموده و پس از چندین بار Invert آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه نمایید. دمای نگهداری آنزیم پروتئیناز K پس از انجام این فرایند در دمای ۲۰-۸°C می باشد.

۱. اِم ۲۰۰ از نمونه مورد نظر را به درون یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل انتقال دهید.

توجه: در صورت استفاده بیش از اِم ۲۰۰ از نمونه، میزان Carrier-Lysis Solution را به همان نسبت افزایش دهید.

۲. به ازای هر نمونه اِم ۲۰۰ از Carrier-Lysis Solution را به میکروتیوب اضافه نمایید.

۳. سپس اِم ۴۰ Proteinase K را به میکروتیوب اضافه کرده، Vortex نمایید و در دمای ۵۶°C به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه نمایید. در طی مدت زمان انکوباسیون هر ۵ الی ۱۰ دقیقه نمونه را vortex و Spin نمایید.

۴. اِم ۱۰۰ از Carrier-Lysis Solution باقی مانده را به میکروتیوب اضافه نموده و به مدت ۱۵ ثانیه Pulse-Vortex نمایید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط (۲۵-۱۵°C) انکوبه نمایید.

۵. اِم ۲۰۰ اتانول مطلق به میکروتیوب اضافه کرده و به خوبی invert کنید.

۶. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.

توجه: برای بهینه سازی نتایج به مدت ۳۰ ثانیه در دمای محیط ستون - کالکشن حاوی نمونه را انکوبه نمایید.

۷. ستون و کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. محتویات داخل کالکشن را دور ریخته و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. صورتی که حجم نمونه بیشتر از اِم ۷۰۰ باشد، محتویات را مجدداً داخل همان ستون ریخته و سانتریفیوژ نمایید تا تمامی حجم نمونه مورد استفاده قرار گیرد.

۸. اِم ۵۰۰ محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید.

محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۹. اِم ۵۰۰ محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید.

محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۱۰. مرحله ۹ را مجدداً تکرار کنید. (اختیاری)

۱۱. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

۱۲. کالکشن را دور بیاندازید و ستون استخراج را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.

۱۳. اِم ۴۰-۵۰ از محلول Vira El به مرکز ستون اضافه نمایید. درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

* در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase I طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* در صورت نیاز به DNA ژئومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰°C نگهداری کنید.

Viral RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز: ۲۰۰ ال از نمونه های یوکاریوتی شامل خون، پلاسما، سرم و سایر مایعات بدن.
دستورالعمل:

- * قبل از شروع فرایند استخراج، Carrier-Lysis Solution را طبق جدول ۱ تهیه فرمایید.
 ۱. ۲۰۰ ال از نمونه مورد نظر را به درون یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل انتقال دهید.
توجه: در صورت استفاده بیش از ۲۰۰ ال از نمونه، میزان Carrier-Lysis Solution را به همان نسبت افزایش دهید.
 ۲. به ازای هر نمونه ۳۰۰ ال از Carrier-Lysis Solution را به میکروتیوب اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه Pulse-Vortex نمایید.
 ۳. سپس میکروتیوب حاوی نمونه را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط (۱۵-۲۵ °C) انکوبه نمایید.
 ۴. ۲۰۰ ال اتانول مطلق به میکروتیوب اضافه کرده و به خوبی invert کنید.
 ۵. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.
توجه: برای بهینه سازی نتایج به مدت ۳۰ ثانیه در دمای محیط ستون-کالکشن حاوی نمونه را انکوبه نمایید.
 ۶. ستون و کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. محتویات داخل کالکشن را دور ریخته و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید.
 ۷. ۵۰۰ ال محلول Wash Solution I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
 ۸. ۵۰۰ ال محلول Wash Solution II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
 ۹. مرحله ۸ را مجدداً تکرار کنید. (اختیاری)
 ۱۰. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
 ۱۱. کالکشن را دور بیاندازید و ستون استخراج را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.
 ۱۲. ۴۰۰-۵۰۰ ال از محلول Vira El به مرکز ستون اضافه نمایید. درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
- * در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase I طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.
* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰-°C نگهداری کنید.

Stool DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

نمونه مدفوع : ۱۰۰ mg

دستورالعمل:

- توجه: قبل از شروع استخراج، محتویات ویال حاوی Proteinase K Buffer را به ویال پودر لیوفیلیزه پروتئیناز K اضافه نموده و پس از چندین بار Invert آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه نمایید.
دمای نگهداری آنزیم پروتئیناز K پس از انجام این فرآیند در دمای ۲۰-°C می باشد.
۱. ۱۰۰ mg نمونه را به یک میکروتیوب ۲ ml استریل انتقال داده و آن را به مدت ۵ دقیقه روی یخ قرار دهید.
 ۲. ۴۰۰ ال از Vira Lyse اضافه نموده و بخوبی مخلوط نمایید.
توجه: در صورت نیاز به استخراج DNA از باکتری گرم مثبت از نمونه مدفوع، ۲۵ ال از آنزیم لیزوزیم با غلظت ۵۰ mg/ml را به میکروتیوب اضافه نمایید و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوبه نمایید. در زمان انکوباسیون، هر ۱۰ دقیقه میکروتیوب را Spinning و Vortex نمایید.
 ۳. ۲۰ ال آنزیم Proteinase K اضافه و Spinning و Vortex نمایید. سپس به مدت ۱ ساعت در دمای ۵۶ °C انکوبه نمایید. در طول مدت زمان انکوباسیون، هر ۱۵ دقیقه میکروتیوب را Spinning و Vortex نمایید.
 ۴. میکروتیوب را به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط (۱۵-۲۵ °C) سانتریفیوژ نمایید.
 ۵. سوپرناتانت را به آرامی و با دقت به یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل جدید منتقل نمایید. اطمینان حاصل کنید که رسوب ایجاد شده به داخل سوپرناتانت منتقل نشود.
 ۶. ۲۰۰ ال از محلول Vira Bind به آن افزوده و به خوبی مخلوط نمایید.
 ۷. ۱۰۰ ال ایزوپروپانول اضافه نموده و به خوبی پیپتاژ نمایید.
 ۸. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون، پیپت نمایید.
توجه: ستون-کالکشن حاوی نمونه را برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه نمایید.
 ۹. ستون-کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید و سپس محتویات داخل کالکشن را دور بیاندازید. در صورتی که حجم نمونه بیش از ۷۰۰ ال باشد، محتویات را مجدداً داخل ستون ریخته و سانتریفیوژ نمایید تا تمامی حجم نمونه مورد استفاده قرار گیرد.
 ۱۰. ۵۰۰ ال محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۱۱. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۱۲. مرحله ۱۱ را مجدداً تکرار نمایید.

۱۳. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۳ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای اتاق سانتریفیوژ نمایید.

۱۴. کالکشن را دور بیانداژید و ستون استخراج را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.

۱۵. ۵۰-۱۰۰ μl از محلول Vira El (که در ابتدا در دمای ۶۵ °C انکوبه نموده اید) به مرکز ستون اضافه کنید. درب آن را بسته و به مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

* در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰ °C نگهداری کنید.

Sperm DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

نمونه اسپرم : ۵۰۰-۱۰۰ μl

دستورالعمل:

توجه: قبل از شروع استخراج، محتویات ویال حاوی Proteinase K Buffer را به ویال پودر لیوفیلیزه پروتئیناز K اضافه نموده و پس از چندین بار Invert آن را به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه نمایید. دمای نگهداری آنزیم پروتئیناز K پس از انجام این فرآیند در دمای ۲۰-۸ °C می باشد.

۱. ۵۰۰-۱۰۰ μl از نمونه را به یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل انتقال دهید.

۲. ۳۰۰ μl از محلول Vira Lyse را به میکروتیوب اضافه نموده و به مدت ۱۰ ثانیه Vortex کنید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط (۲۵-۱۵ °C) با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ نمایید.

۳. سوپرناتانت را به آرامی و با دقت جدا نمایید و دور بریزید. به منظور جلوگیری از ترکیب سوپرناتانت و رسوب، اجازه دهید مقداری از سوپرناتانت (حدود ۱۰۰ μl) روی رسوب باقی بماند.

۴. رسوب باقی مانده را به مدت ۱۰ ثانیه Vortex کنید.

۵. ۲۰۰ μl از محلول Vira Virus Lyse را به میکروتیوب اضافه کرده و به خوبی مخلوط کنید. سپس Vortex و Spin نمایید.

۶. ۴۰ μl از آنزیم Proteinase K را به میکروتیوب اضافه نموده و به خوبی Vortex نمایید. سپس آن را به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۵۶ °C انکوبه نمایید. در طی مدت زمان انکوباسیون، هر ۵ الی ۱۰ دقیقه میکروتیوب را invert و Spin نمایید.

۷. مجدداً ۲۰۰ μl از محلول Vira Virus Lyse را اضافه نموده و به خوبی آن را Vortex نمایید. توجه: جهت بازدهی بهتر، در این مرحله ۱۰۰ μl ایزوپروپانول اضافه نمایید و به خوبی پیپتاژ کنید. (اختیاری)

۸. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.

توجه: برای بهینه سازی نتایج به مدت ۳۰ ثانیه در دمای محیط ستون - کالکشن حاوی نمونه را انکوبه نمایید.

۹. ستون - کالکشن را به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط و با دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ نمایید. محتویات داخل کالکشن را تخلیه کرده و مجدداً ستون را داخل همان کالکشن قرار دهید.

۱۰. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۱۱. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.

۱۲. مرحله ۱۱ را مجدداً تکرار نمایید.

۱۳. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۱ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

۱۴. کالکشن را دور انداخته و ستون استخراج را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.

۱۵. ۴۰-۵۰ μl از Vira El را به مرکز ستون اضافه کنید. درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق و با دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ نمایید.

* در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰ °C نگهداری کنید.

Fungia DNA/RNA Extraction Kit

میزان نمونه مورد نیاز:

۹۰۰ اسلول قارچ کشت داده شده (۵ ml)

دستورالعمل:

- به ازای هر نمونه، ۵۰۰ μl از محلول Vira Lysis را با ۱۰ μl β-mercaptoethanol در یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل بخوبی مخلوط نموده و در دمای ۶۵°C تا زمان آماده سازی نمونه انکوبه نمایید.
در صورت استخراج RNA به محلول مقدار ۱۲ RNA Carrier اضافه نمایید.
۱. پس از کشت Overnight قارچ مورد نظر، آن را به مدت ۳ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ نمایید.
۲. سوپرناتانت را دور بریزید و به رسوب حاصل مقدار ۵۰۰ μl از محلول Vira Lysis که از قبل انکوبه کرده اید اضافه نمایید به مدت ۱۵ ثانیه Vortex کنید. سپس در دمای ۶۵°C به مدت ۵ دقیقه انکوبه کنید. در طول این مدت زمان ۳ الی ۴ بار Vortex و Spin نمایید.
۳. میکروتیوب را به مدت ۳ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm و در دمای ۴°C، سانتریفیوژ نمایید.
۴. سوپرناتانت را با احتیاط و به آرامی برداشته و به یک میکروتیوب ۱/۵ ml استریل انتقال دهید.
۵. ۵۰۰ μl ایزوپروپانول به میکروتیوب حاوی سوپرناتانت اضافه و به خوبی پیپتاژ نمایید تا مخلوطی همگن به دست آید.
۶. ستون را داخل کالکشن قرار داده و محتویات میکروتیوب را به آرامی به ستون انتقال دهید.
توجه: ستون کالکشن حاوی نمونه را برای بهینه سازی نتایج به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط (۲۵-۱۵ °C) انکوبه نمایید.
۷. ستون کالکشن را به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید. سپس محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و مجدداً ستون را در همان کالکشن قرار دهید. در صورتی که حجم نمونه بیش از ۷۰۰ μl باشد، محتویات را مجدداً داخل همان ستون ریخته و سانتریفیوژ نمایید تا تمامی حجم نمونه مورد استفاده قرار گیرد.
توجه: در صورت استخراج RNA می‌توانید در این مرحله پس از سانتریفیوژ محلول DNase را طبق پروتکل شرکت سازنده آماده کرده و بر روی ستون بریزید.
۸. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash I را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
۹. ۵۰۰ μl محلول Vira Wash II را به آرامی و به صورت دورانی به ستون اضافه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ کنید. محتویات داخل کالکشن را دور بریزید و ستون را مجدداً در همان کالکشن قرار دهید.
۱۰. مرحله ۹ را مجدداً تکرار نمایید.
۱۱. ستون - کالکشن خالی را به مدت ۲ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ rpm دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.
۱۲. کالکشن را دور بیانداژید و ستون را داخل میکروتیوب ۱/۵ ml استریل قرار دهید.
۱۳. ۵۰ μl از محلول Vira El به مرکز ستون اضافه کنید، درب آن را بسته و به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط انکوبه کنید. سپس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ rpm در دمای محیط سانتریفیوژ نمایید.

* در صورت نیاز به RNA خالص از آنزیم DNase طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* در صورت نیاز به DNA ژنومیک خالص از آنزیم RNase A طبق مراحل ذکر شده در پروتکل آنزیم، استفاده شود.

* اسید نوکلئیک استخراج شده را در دمای ۲۰°C نگهداری کنید

راهنمای عیب یابی:

پیشنهادهات	دلایل احتمالی	ايرادات
به دمای درج شده روی لیبل تمامی اجزای کیت دقت فرمایید و هر کدام را در دمای مناسب خود نگهداری کنید. مقادیر بالای نمونه می تواند موجب لیز سلولی ناکافی، انسداد ستون و متعاقبا کاهش بازده استخراج گردد. مقادیر را طبق دستورالعمل استفاده نمایید. نمونه باید تازه و یا شرایط نگهداری آن به درستی رعایت شده باشد. از آنجایی که سرعت و میزان خرد و همگن کردن نمونه در بازده استخراج تاثیر بسزایی دارد، از انجام این مرحله اطمینان حاصل فرمایید تا از ایجاد توده سلولی جلوگیری بعمل آید. گیاهان با متابولیت ثانویه مراحل لیز سخت تری دارند که حتما باید به صورت همگن لیز شوند. گیاهانی که طولانی مدت نگهداری شده اند حتما باید شرایط دمایی نگهداری آن (۸۰°C-) رعایت شود.	عدم نگهداری کیت در دمای تعیین شده میزان بالای نمونه اولیه عدم استفاده از نمونه تازه یا نمونه با شرایط نگهداری نامناسب هضم نامناسب نمونه اولیه	عدم مشاهده نتیجه یا غلظت کم DNA/RNA
قبل از اضافه نمودن ایزوپروپانول سوپرناتانت باید فاقد توده سلولی باشد. استفاده از مقادیر بالای نمونه منجر به ناکارآمدی لیز سلولی و در نتیجه کاهش خلوص DNA/RNA خواهد شد. از انجام صحیح مراحل شستشو اطمینان حاصل کنید. مراقب باشید که ستون پس از شستشو با محلول داخل کالکشن تماس پیدا نکند. در صورت رخداد، مرحله ۱۱ را مجددا تکرار کنید. مرحله سانتریفیوژ کردن ستون - کالکشن خالی را مجددا تکرار نمایید تا محلول Vira Wash II کاملا از محصول حذف گردد.	انسداد ستون استخراج مقادیر نامناسب 260/230 در نانودراپ وجود باقی مانده اتانول در نمونه استخراج شده	خلوص کم RNA/DNA مشکلات مرتبط با فرایندهای پس از استخراج مانند: PCR, RT-PCR
بدلیل اختلاف در pH، صرفا از محلول Elution Buffer موجود در کیت استفاده نمایید.	به جای Elution Buffer از آب استفاده شده است.	کاهش عملکرد استخراج