# *tBioCare™* Viral RNA/DNA Swab Kit
# Short Protocol 1

## پروتکل ۱ - استخراج DNA و RNA از سواب خشک

**قبل از شروع:**

- مطمئن شوید که آماده سازی آنزیمهای A و B طبق دستورالعمل صفحه ۳ کتابچه راهنما انجام شده است.
- ترموبلاک (ترمومیکسر) را بر روی ۹۰ درجه سانتیگراد تنظیم کنید.

**نکته مهم:** کیت *tBioCare™* Viral RNA/DNA Swab Kit برای استخراج DNA و RNA از سواب خشک طراحی شده است. به هیچ عنوان از نمونه هایی که در UTM/VTM و یا PBS نگهداری شده اند در این کیت استفاده نکنید. در صورت نیاز می توانید از محلول X به عنوان UTM/VTM طبق پروتکل ۲ (صفحه ۹ کتابچه راهنما) استفاده کنید.

**نکته مهم:** سواب خشک حاوی پارتیکلهای ویروس را می توانید تا ۷ روز در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری نمایید.

**پروتکل:**

۱- مقدار ۴۶۰ میکرو لیتر محلول X به یک لوله تمیز اضافه کنید.

۲- به ازای هر نمونه مقادیر ۲۰ میکرولیتر آنزیم A و ۲۰ میکرولیتر آنزیم B را با هم مخلوط کنید و به میزان ۴۰ میکرولیتر از مخلوط آماده شده به لوله های حاوی محلول X اضافه کنید.

**نکته:** این آماده سازی حتما باید در زمان آزمایش و به صورت تازه انجام شود. مخلوط آنزیمهای A و B قابل نگهداری نیستند. برای سهولت کار می توانید مخلوط مراحل ۱ و ۲ را به تعداد نمونه های مورد آزمایش در یک لوله فالکون تهیه و سپس به لوله های ۱/۵ یا ۲ میلی میلتری تمیز تقسیم کنید.

۳- سواب را به مدت ۵ ثانیه در مخلوط محلول X و آنزیم های A و B بچرخانید. نوک سواب را جدا کنید تا در لوله واکنش آزاد شود. لوله واکنش را به طور ایمن ببندید تا از باز شدن در مرحله لیز جلوگیری شود.

۴- لوله ها را به مدت ۱۵ ثانیه ورتکس کنید.

۵- مخلوط لیز را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد انکوبه کنید.

۶- مخلوط بالا را خنک کنید، به عنوان مثال روی یخ قرار دهید. سپس به مدت ۳۰ ثانیه با دور ۸۰۰۰ سانتریفیوژ کنید.

۷- با انتقال مقدار ۵ تا ۱۰ میکرولیتر از محلول لیز شده به لوله PCR، آزمایش خود را انجام دهید.

۸- می توانید برای ذخیره ی باقیمانده ی استخراج، محلول استخراج شده را به یک لوله ی ۱/۵ میلی لیتری تمیز منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره نمایید.

**نکته:** در صورتیکه از کیت tBioDx™ SARS-CoV-2 5-plex Screening Kit استفاده میکنید، مقدار ۷ میکرولیتر از محلول استخراج شده را به لوله ی PCR منتقل کنید.

**نکته:** در صورتیکه فقط از سوابهای نازوفارنکس که دارای نوک باریک و کوتاه می باشند استفاده می کنید، می توانید حجم محلول X را به ۳۰۰ میکرولیتر کاهش دهید. در این حالت، میزان استفاده از آنزیم های A و B نیز به ازای هر نمونه ۱۲ میکرولیتر خواهد بود (۱۲ میکرولیتر آنزیم A و ۱۲ میکرو لیتر آنزیم B).