tBioCare™ Viral RNA/DNA Swab Kit
Short Protocol 2 - Using reagent X as UTM/VTM

پروتکل ۲ - استخراج DNA و RNA از سواب خشک
استفاده از محلول X به عنوان UTM/VTM

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.

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

پروتکل:

۱- سواب را به مدت ۵ ثانیه در ۴۶۰ میکرو لیتر محلول X بچرخانید.

۲- 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.

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

نکته: این آماده سازی حتما باید در زمان آزمایش و به صورت تازه انجام شود. مخلوط محلولهای A و B قابل نگهداری نیستند.

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 محلول های A و B نیز به ازای هر نمونه ۱۲ میکرولیتر خواهد بود (۱۲ میکرولیتر محلول A و ۱۲ میکرو لیتر محلول B).