



NANO TECHNOLOGY ADD FOR INNOVATION

BNG® Quick-RNA İzolasyon Kiti

KULLANIM KILAVUZU





Yayınlanma Tarihi:14.10.2020



V-RNA-025

BNG® Quick-RNA İzolasyon Kiti Kullanım Kılavuzu

Kit İçeriği ve Saklama Koşulları				
	Sağlanan Materyaller	50 Test	100 Test	Saklama Koşulu
1	Lizis Tamponu I	1560 µL	3110 µL	+15°C / +25°C
2	Lizis Tamponu II	2630 µL	5260 µL	+15°C / +25°C
3	RNA tutucu ajan	102 µL	202 µL	-20°C
4	Carrier RNA	51 uL	101 uL	-20°C
5	Elution Buffer	2500 µL	5000 µL	+15°C / +25°C
6	Spin Kolon	50 Adet	100 Adet	+15°C / +25°C
7	Toplama Tüpü	50 Adet	100 Adet	+15°C / +25°C

Kitin Kullanımı için Gerekli Olan ve Kullanıcı Tarafından Sağlanacak Ekipman ve Sarflar
<ol style="list-style-type: none">1) 1-10 uL ve 100-1000 uL mikropipet: Ayarlanabilir hacimli2) Mikrosantrifüj tüpü; 1,5 mL hacimli ve nükleaz içermeyen3) Mikropipet ucu: 1-10 uL ve 100-1000 uL filtreli pipet ucu4) Mikrosantrifüj cihazı: 8000xg 'de çalışabilmeli5) Vortex cihazı6) Tek kullanımlık nitril eldiven7) %70 Ethanol ve %100 Ethanol (moleküler biyoloji derecesi)

Kullanım Amacı:

Kit, nazofarengal ve orofarengal swap örneği, sıvılaştırılmış balgam gibi örneklerden viral nükleik asit izolasyonu amacıyla kullanılmaktadır.

Prensip:

Kit, lipid zar ya da protein kılıfa sahip her türlü viral partiküllerdeki genetik materyalin, fiziksel, enzimatik ve biyokimyasal işlemler uygulanarak hücre dışına alınması ve spin kolon tekniği ile saflaştırılması ilkesine dayanmaktadır. **BNG Quick RNA İzolasyon kiti** sürüntü örneğin nükleik asit eldesi için kullanılan *in vitro* ekstraksiyon kitidir. Virüs içeren hücresiz vücut sıvılarından yüksek saflıkta viral RNA elde etmek için kullanılan hızlı ve basit metoda sahiptir. İzolasyon sonunda yüksek verim ve saflık elde edilir.

Uyarılar:

- 1) Kit bileşenleri saklama koşullarına uygun olarak muhafaza edilmelidir. Protokol uygulanması esnasında solüsyonlar oda sıcaklığında olmalıdır.
- 2) Tüm klinik örnekler ve ortaya çıkan tüm atık materyaller, potansiyel bulaşıcı olarak işlem görmelidir.
- 3) Kullanılmayan reaktifleri, atıkları ve örnekleri ülke veya yerel düzenlemelere uygun olarak atılmalıdır.
- 4) Laboratuvar çalışma alanında yemek yemeyin, içecek ve sigara içmeyiniz.
- 5) Klinik numuneler ve kit reaktifleri ile çalışırken koruyucu tek kullanımlık eldivenler, laboratuvar önlüğü ve koruyucu gözlük kullanınız.
- 6) Kit bileşenleri kullanım öncesinde hafifçe karıştırılmalıdır.
- 7) Kit içeriğindeki kimyasal maddeler, aynı isimli fakat farklı lot numaralı ya da farklı üreticilerin ürettikleri kimyasal maddeler ile karıştırılmamalıdır.
- 8) Kit bileşenlerinin korunması için tüp ve şişe kapakları her kullanım sonrasında sıkıca kapatılmalıdır.
- 9) Numunenin bulunduğu tüp, her kimyasal eklenmesinden sonra iyice karıştırılmalıdır.
- 10) Tüm pipetleme cihazlarını ve aletlerini dikkatli kullanın ve kalite kontrol için üreticinin talimatlarını izleyiniz.
- 11) Kontaminasyonun önlenmesi amacıyla, kit herhangi bir DNA, RNA ve amplifiye nükleik asit kaynağından uzak bir yerde muhafaza edilmelidir.
- 12) Örnek kontaminasyonunu önlemek için yeni, sterilaerosol bariyer veya filtreli pipet uçları kullanınız.
- 13) Nükleik asit izolasyonunun gerçekleştirildiği alan biyolojik güvenlik kabinlerinde gerçekleştirilmelidir.
- 14) İzolasyon işleminin gerçekleştirildiği tezgahlar ve cihazlar silinebilir yüzeyleri düzenli olarak etanol ve RNaseaway ve %10'luk çamaşır suyu ile silinmelidir. Çalışma esnasında temiz ve yeni eldivenler kullanılmalıdır.
- 15) Örnekleri kullandıktan sonra ve reaktifleri test ettikten sonra ellerinize iyice yıkayın. Reaktiflerin deri, göz veya mukoza zarlarıyla temasından kaçınınız. Temas olması durumunda derhal bol miktarda su ile yıkayınız.

Uygulama Protokolü

1. 1.5 mL'lik steril DNase/RNase free mikrosantrifüj tüpüne (kit ile sağlanmaz) 50 uL sıvı ya da sıvılaştırılmış örnek pipetlenir. Örnek olarak; nazofarengeal ve orofarengealswap örneği kullanılabilir.
2. Üzerine 31 µL **Lizis tamponu I**, 52,5 µL **Lizis tamponu II**, 2 µL **RNA tutucu ajan** ve 1 µL **Carrier RNA** tüpe eklenir.
3. 5 sn. mikrosantrifüj tüpüne vorteks işlemi uygulanır.
4. Bir adet spin kolon, toplama tüpüne yerleştirilir.
5. Numune tüpündeki sıvıdan 136,5 µL alınarak kolona aktarılır.
6. Kolon 8000 xg'de 5 dakika oda sıcaklığında (15-25°C) santrifüj edilir.
7. 200uL %70'lik EtOH(kit ile sağlanmaz) kolona pipetlenir.
8. Kolon 8000 xg'de 2 dakika oda sıcaklığında (15-25°C) santrifüj edilir.
9. 200uL %100'lük EtOH(kit ile sağlanmaz) kolona pipetlenir.
10. Kolon 8000 xg'de 2 dakika oda sıcaklığında (15-25°C) santrifüj edilir. Santrifüj sonrası toplama tüpü, içindeki atık sıvı ile birlikte çöpe atılır. Kolon, daha sonra 1,5 mL sterilDNase/RNasefree yeni bir mikrosantrifüj tüpünün üzerine yerleştirilir.
11. 50 µL **Elution Buffer** kolona pipetlenir.
12. Oda sıcaklığında (15-25°C'de) 1 dakika inkübe edilir.
13. Kolon, altındaki 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüyle birlikte 8000 xg'de 1 dakika oda sıcaklığında (15-25°C) santrifüj edilir.
14. İşlem sonunda spin kolon çöpe atılır. Nükleik asidi içeren elüsyon tüpünün kapağı kapatılır. Mikrosantrifüj tüp izole edilen viral RNA'yı içerir. Viral RNA'yı doğrudan PCR, RT-qPCR ve qPCR uygulamalarında kullanabilirsiniz. Kısa süreli saklama için -20°C'de, uzun süreli saklama için -80°C'de muhafaza ediniz.

Sorun Giderme		
Sorun	Olası Neden	Çözüm Önerisi
RNA verimi veya saflığı düşük	Uygunsuz saklama koşulları	Kit bileşenlerinde RNA tutucu ajan ve Carrier RNA -20°C'de; diğer bileşenler ise oda sıcaklığında muhafaza edilmeli, tüp ve şişe kapakları her kullanım sonrasında sıkıca kapatılmalıdır. "Uyarılar" bölümü dikkatle okunmalı, gerekli işlemler uygulanmalıdır.
	Kimyasallar ile numunenin iyi karışmaması	Numune tüpü, her kimyasal ilavesinden sonra iyice pipetleme işlemi yapılarak karıştırılmalıdır.
PCR Verimi çok düşük	Düşük analit miktarı	İzole edilen numune miktarı arttırılmalıdır.



BIONANOGEN TEKNOLOJİ GELİŞTİRME SANAYİ VE TİCARET A.Ş.

Adatepe Mah. 10 Sokak No:5/A Buca/İZMİR

Tel: +90 232 440 62 46

E-mail: info@bionanogen.com.tr

Web: www.bionanogen.com.tr