Virus DNA/RNA Extraction kit

Kit Size: 50 preps

Items	Quantity
Lysis buffer	15 ml
Lysozyme	1 tube
Magnetic bead S	500 µl
Washing buffer AW	25 ml
Washing buffer SW	25 ml
Eluent S	5 ml
Protocol Manual	1

A. การเตรียมสาร

1. เตรียม isopropanol และ absolute ethanol (analytical grade, sterile, RNase free)
2. เมื่อเปิดฝา Washing buffer AW และ Washing buffer SW แล้ว ให้เติมดังนี้
   - 2.1 เติม absolute ethanol ลงใน Washing buffer AW 18.5 ml
   - 2.2 เติม absolute ethanol ลงใน Washing buffer AW 22 ml
   - 2.3 เติม isopropanol 300 ul ลงในทั้ง Washing buffer AW และ Washing buffer SW
3. เตรียม Magnetic stand
4. ถ้าสกัด RNA virus ควรใช้ RNase free ทั้ง Tip และ 1.5 ml centrifuge tube, หรือทำความสะอาดด้วย 0.1% DEPC water

B. ขั้นตอนการสกัด DNA/RNA

1. เติม 20 µl Lysozyme ลงใน 1.5ml Eppendorf tube
2. เติม sample 200 µl (ถ้ามีตัวอย่างไม่ถึง 200µl ให้เติม sterile saline solution ให้ได้ปริมาตร 200 µl)
3. เติม 300 µl lysis buffer แล้วเขย่าผสม จากนั้นบ่มที่ 56°C, 10 นาที
4. เติม Magnetic beads 10-30 µl
5. เติม isopropanol 200 µl แล้ว mix ด้วย autopipette จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25°C)
6. วาง Eppendorf tube บน magnetic stand รอจน magnetic เกาะตัวเป็นกลุ่มที่ผนังหลอด จนสารละลายใส (ประมาณ 2 นาที) จากนั้น**ดูดสารละลายส่วนใสทิ้ง** โดยระวังไม่ให้ดูดติด magnetic bead ไปด้วย
7. นำ Eppendorf tube ออกจาก magnetic stand แล้วเติม Washing buffer AW 500 µl ผสมแบบคว่ำ/หงายหลอด ประมาณ 2 นาที
8. วาง Eppendorf tube บน magnetic stand รอจน magnetic เกาะตัวเป็นกลุ่มที่ผนังหลอด จนสารละลายใส (ประมาณ 2 นาที) จากนั้น**ดูดสารละลายส่วนใสทิ้ง** โดยระวังไม่ให้ดูดติด magnetic bead ไปด้วย
9. นำ Eppendorf tube ออกจาก magnetic stand แล้วเติม Washing buffer SW 500 µl ผสมแบบคว่ำ/หงายหลอด ประมาณ 2 นาที
10. วาง Eppendorf tube บน magnetic stand รอจน magnetic เกาะตัวเป็นกลุ่มที่ผนังหลอด จนสารละลายใส (ประมาณ 2 นาที) จากนั้น**ดูดสารละลายส่วนใสทิ้ง** โดยระวังไม่ให้ดูดติด magnetic bead ไปด้วย
11. เปิดฝาแล้วตั้งหลอด Eppendorf ทิ้งไว้ใน safety cabinet ประมาณ 2 นาที สังเกตให้ magnetic แห้ง และไม่มีแสงสะท้อนของน้ำบน magnetic
12. นำ Eppendorf tube ออกจาก magnetic stand แล้วเติม Elution buffer หรือ deionized water 50-100 µl แล้ว incubate ใน 56℃ 5-10 นาที
13. วาง Eppendorf tube บน magnetic stand รอจน magnetic เกาะตัวเป็นกลุ่มที่ผนังหลอด จนสารละลายใส (ประมาณ 2 นาที) จากนั้นดูดสารละลายส่วนใส**ย้ายไปยังหลอด Eppendorf tube หลอดใหม่**
14. ตรวจวัดปริมาณและความบริสุทธิ์ของ DNA/RNA ด้วย spectrophotometer หรือ fluorometer