KIT DE EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE DNA/RNA SEMI-AUTOMÁTICO
Modelo: 16-Nova-LU
Ficha de Instruções de Uso

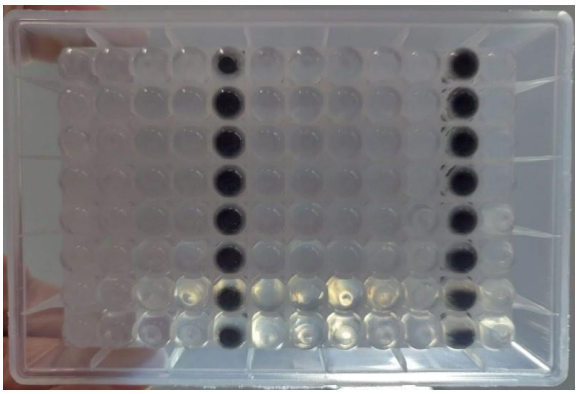
1. Uso pretendido

O **Kit de Extração e Purificação de DNA/RNA semi-automático** é indicado para a extração automatizada de DNA/RNA a partir de amostras biológicas.
Na análise do material genético extraído deverá ser utilizado kit de biologia molecular para PCR, RT-PCR, RT-qPCR ou outros testes de biologia molecular disponíveis no mercado.
O Kit é de uso EXCLUSIVO PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

2. Características e Composição do Kit

O **Kit de Extração e Purificação de DNA/RNA semi-automático** é composto por uma placa descartável produzida em polipropileno com 96 cavidades (imagem 1) contendo reagentes suficientes para 16 extrações e 2 Sleeves (pentes) com 8-Strips descartáveis (imagem 2).

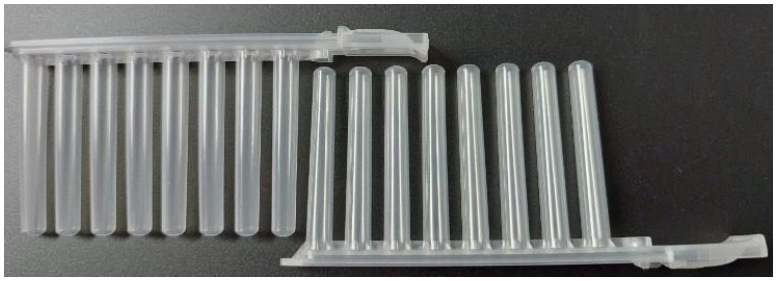
Imagem 1: Placa 96 cavidades com reagentes (vista inferior, e vista lateral)



Vista inferior

Vista Lateral

Imagem 2: *Sleeves* (pentes)



2.1 Especificações

A solução de lise que compõe **Kit de Extração e Purificação de DNA/RNA semi-automático** desnatura as proteínas, os contaminantes e os detritos das amostras, liberando assim os ácidos nucléicos e, em seguida, o RNA/DNA que estará em suspensão na solução será capturado pelas *beads* magnéticas (partículas magnéticas). As *beads* aderidas de RNA/DNA são capturadas por um imã. Em uma próxima etapa, os

contaminantes são removidos através de repetidos processos de lavagem. Finalmente, os ácidos nucléicos são dissociados das *beads* magnéticas e eluídos em solução apropriada.

A placa que compõe o **Kit de Extração e Purificação de DNA/RNA automatizado Modelo: 16-Nova-LU** tem capacidade de processar 300 µL de amostra biológica por poço.

A distribuição dos reagentes está descrita conforme a tabela abaixo:

POÇOS	REAGENTE	VOLUME
1 e 7	Solução de lise	508µL
2 e 8	Solução de ligação	300µL
3 e 9	Solução de lavagem	400µL
4 e 10	Solução de lavagem	400µL
5 e 11	*Beads* (partículas) magnéticas	100µL
6 e 12	Solução Eluição	100µL

3. Armazenamento e transporte

Transportar e armazenar entre 2°C e 8°C.

4. Validade

O **Kit de Extração e Purificação de DNA/RNA semi-automático Modelo: 16-Nova-LU** tem validade de 12 meses quando mantido fechado e armazenado corretamente.

5. Informação de Segurança

- Sempre que estiver trabalhando com soluções químicas e amostras biológicas, EPIs são necessários conforme normas de segurança regulamentadas.
- Depois de receber o *kit* verificar se as embalagens dos componentes estão danificadas ou se há

vazamento dos líquidos. Caso estiverem danificados ou com vazamento, usar luvas e óculos de proteção e entrar em contato com NOVA BIOTECNOLOGIA para informações sobre o correto descarte.
- Não usar componentes danificados, pois eles podem gerar baixo rendimento.
- Sempre trocar as ponteiras entre as transferências de líquidos para evitar a contaminação cruzada.
- Não misturar componentes de kits diferentes, se não forem do mesmo lote.
- Este *kit* deve ser usado apenas por pessoal treinado.
- Armazenar o kit em condições próprias para uso em laboratório.
- Contaminações causadas pelos resíduos são raríssimas, mas não podem ser completamente descartadas. Portanto, os resíduos devem ser considerados como material infeccioso e devem ser manuseados de acordo com as normas de segurança regulamentadas.
- Caso sejam necessárias mais informações a respeito do produto, favor entrar em contato com a NOVA BIOTECNOLOGIA.

6. Procedimento

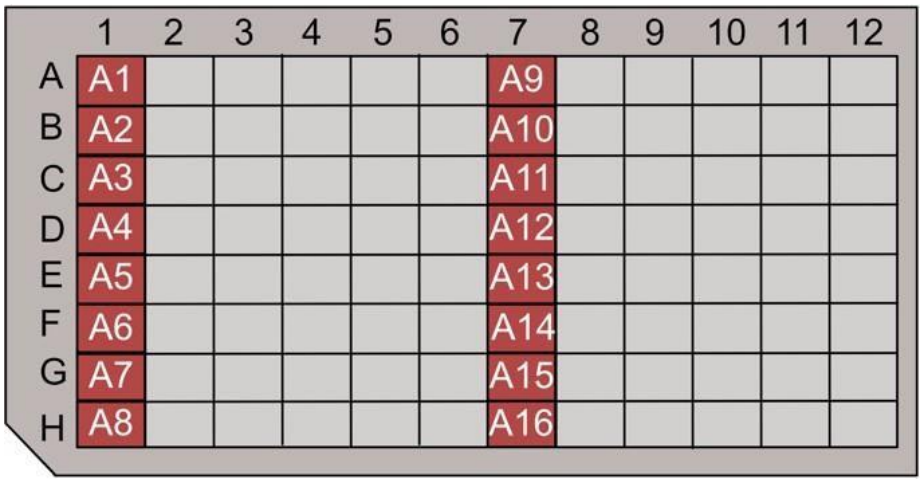
6.1. Preparação das amostras

• Sangue total: utilizar 100 µL de sangue com anticoagulante.
• Soro e plasma: utilizar 200 µL da amostra.
• Tecidos: 100mg de amostra de tecido devem ser ressuspendidos em 1 mL de solução salina para posterior trituração mecânica, centrifugar o material em 7.000 rpm durante 5 minutos. Trabalhar com 300 µL de sobrenadante para o processo de extração.
• Saliva e amostras nasofaríngeas: 300µL de amostra em solução de coleta diretamente na solução de extração.

6.2. Procedimento para extração de ácidos nucleicos com uso de equipamento automatizado

• Retirar a placa Modelo: 16-Nova-LU da embalagem e remover o filme de alumínio da parte superior.
• Identificar a posição da placa Modelo: 16-Nova-LU e sempre localizar a **A1** para cima e à esquerda.
• Adicionar as amostras* nas colunas **1 e 7** com auxílio de uma micropipeta.
• Colocar a Placa Modelo: 16-Nova-LU no robô de extração automática no compartimento apropriado, observando o perfeito encaixe no local.
• Colocar os pentes descartáveis com os 8-*Strips* na canaleta apropriada, acima da placa Modelo: 16-Nova-LU no equipamento de extração.
• Fechar a porta com a placa Modelo: 16-Nova-LU perfeitamente encaixada.
• Verificar o programa que será utilizado para extração de DNA/RNA das amostras.
• O equipamento irá iniciar o procedimento.
• Retirar DNA/RNA extraído da placa que estará disponível nas colunas **5** e **11**. O RNA/DNA extraído poderá ser utilizado imediatamente ou ser armazenado de 2 a 8°C por até 12 horas.
• Após este período é recomendado armazenar a -20°C ou por longos períodos a -80°C.

*As colunas identificadas de 1 e 7 indicam os locais onde deverão ser adicionadas as amostras (A1 a A16).



6.3 Programa sugerido para extração de ácidos nucleicos semi-automatizada (placa compatível com os equipamentos originais EXTRACTA 16 e EXTRACTA 32 fabricados pela empresa LOCCUS DO BRASIL LTDA);

- Temperatura da Lise: 70°C.
- Iniciar o aquecimento na ETAPA 1 e finalizar na ETAPA 2.
- Temperatura da Eluição: 70°C.
- Iniciar o aquecimento na ETAPA 5 e finalizar na ETAPA 6.

	PASSO 1	PASSO 2	PASSO 3	PASSO 4	PASSO 5	PASSO 6	PASSO 7	PASSO 8
NOME	LISE	*BEADS*	LISE	LIGAÇÃO	LAVAGEM I	LAVAGEM II	ELUIÇÃO	DESCARTE
Poço da Placa	1	5	1	2	3	4	6	5
Tempo de esp.	0 s	0 s	0 s	0 s	0 s	0 s	90 s	0 s
Tempo de agit.	600 s	30 s	240 s	120 s	120 s	60 s	300 s	30 s
Tempo Ads	0 s	30 s	60 s	60 s	60 s	60 s	60 s	0 s
Volume	828 uL	100 uL	828 uL	300 uL	400 uL	400 uL	100 uL	100 uL
Velocidade	MEDIA	MEDIA	MEDIA	MEDIA	MEDIA	MEDIA	MEDIA	MEDIA
Adsorção	NORMAL	PASSO	PASSO	PASSO	PASSO	PASSO	NORMAL	NORMAL

7. Materiais e Equipamento necessário, mas não fornecidos:

- EPI's conforme normas de segurança regulamentadas,
- Pipetas, Micropipetas,
- Ponteiras
- Centrífugas / Vórtex
- Equipamento Automatizado: Extrator e Purificador de DNA e RNA - EXTRACTA 16 ou EXTRACTA 32 fabricados pela empresa LOCCUS DO BRASIL LTDA.
- Após a extração e purificação da amostra utilizar kit de biologia molecular para PCR, RT-PCR, RT-qPCR ou outros testes de biologia molecular disponíveis no mercado para análise do material genético.

8. Garantia da Qualidade

A **NOVA BIOTECNOLOGIA** fornece garantia do produto **Kit de Extração e Purificação de DNA/RNA semi-automático Modelo: 16-Nova-LU** por ela fornecido contra defeitos de produção pelo período de validade do produto, salvo especificações em contrário a constar da proposta.

• A garantia abrange defeitos de produção.

Exceções da garantia:

• Todos os produtos com defeitos oriundos de mau uso, imperícia, conservação ou armazenagem inadequada.

• Quando não for utilizado de acordo com sua finalidade de aplicação.

9. Informações do Fabricante

NOVA BIOTECNOLOGIA LTDA
R. PASADENA, 235 - PARQUE INDUSTRIAL SAN JOSE
CEP: 06.715-864 - COTIA/SP - BRASIL
CNPJ: 24.096.423/0001-15
RESPONSÁVEL TÉCNICO
Dra. ELIZABETH CORTEZ HERRERA - CRBM 20951

10. Registro ANVISA

REG.: 81867910008

11. Atendimento ao Consumidor

Tel: +55 (11) 4243-2356
www.novabiotecnologia.com.br
e-mail: assessoria@novabiotecnologia.com.br sac@novabiotecnologia.com.br

12. Referencias Bibliograficas

1. Chomczynski P and Sacchi N (1987) Single step method of RNA isolation by acid guanidinum thiocyanate-phenol-chloroform extraction. Anal Biochem, 162, 156-159.

2. Chomczynski P (1993) A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples. Bio Techniques, 15, 532-537.

3. Mackey K and Chomczynski P (1996) Long-Term stability of RNA isolation reagents. J NIH Res., 8,72.

4. Ausubel F M, Brent R. Kingston R E, Moore D D, Seidman J G, Smith JA and Struhl K (1999) Appendix 1, in: current Protocols in Molecular Biology, vol 2, p. A.1.5, Jon Wiley and Sons, Inc., New York, NY.

5. Chomczynski P and Mackey K (1995) Substituition of chloroform with bromochloropropane in the single-step method of RNA isolation. Anal Biochem, 222, 163-164.