

KIT DE EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE DNA/RNA SEMI-AUTOMÁTICO**Modelo: 96-Nova-LV****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 quatro (4) placas descartáveis produzidas em polipropileno com 96 cavidades contendo reagentes suficientes para 96 extrações (imagem 1) e 1 Sleeve (pente) descartável (imagem 2).

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

PLACA 1 (LISE / BEADS)



PLACA 2 (LIGAÇÃO)



PLACA 3 (LAVAGEM)



PLACA 4 (ELUIÇÃO)



Imagem 2: *Sleeve* (pente) descartável

**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 nucleicos 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 ímã. Em uma próxima etapa, os contaminantes são removidos através de repetidos processos de lavagem. Finalmente, os ácidos nucleicos são dissociados das *beads* magnéticas e eluídos em solução apropriado.

A placa que compõe o **Kit de Extração e Purificação de DNA/RNA semi-automático Modelo: 96-Nova-LV** tem capacidade de processar 300 µL de amostra biológica por poço.

A distribuição dos reagentes está descrita conforme a tabela abaixo:

PLACA	REAGENTE	VOLUME
1	Solução lise/beads	528µL
2	Solução ligação	350µL
3	Solução lavagem	400µL
4	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: 96-Nova-LV** 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 ponteiros 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 ressuspensos 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 as placas Modelo: 96-Nova-LV da embalagem e remover o filme de alumínio da parte superior.
- Adicionar 300uL microlitros de amostra na PLACA 1 – Solução de lise/beads com auxílio de uma micropipeta nos 96 poços.
- No equipamento clicar em RUN SETTING para posicionar as placas:
- Selecionar na Position 1, a mesa giratória se posicionará do lado direito, encaixar a PLACA 1 – Solução de lise/beads, posicionando A1 da placa na posição A1 identificada na mesa.
- Colocar os pentes (sleeves) 96-Strip na PLACA 1 – Solução de lise/beads.
- Selecionar na Position 3, a mesa giratória se posicionará do lado direito, encaixar a PLACA 2 – Solução de ligação, posicionando A1 da placa na posição A1 identificada na mesa.
- Selecionar na Position 4, a mesa giratória se posicionará do lado direito, encaixar a PLACA 3 – Solução de Lavagem, posicionando A1 da placa na posição A1 identificada na mesa.
- Selecionar na Position 5, a mesa giratória se posicionará do lado direito, encaixar a PLACA 4 – Solução de eluição, posicionando A1 da placa na posição A1 identificada na mesa.
- Fechar a porta com as placas perfeitamente colocadas.
- Selecionar File Management, verificar o programa que será usado para extração das amostras, clicar em “Start”, assim o programa no extrator fará o procedimento.
 - Ao finalizar, fechar o programa e clicar em RUN SETTING para selecionar as posições e retirar as placas.
- 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.

6.3 Programa sugerido para extração de ácidos nucleicos automatizada (Kit de placas compatíveis com os equipamentos originais EXTRACTA 96 fabricado pela empresa LOCCUS DO BRASIL LTDA ou BFEX-96 fabricado por Hangzhou Bigfish Bio-tech Co., Ltd.):

- Temperatura da Lise: 75°C.
- Iniciar o aquecimento na ETAPA 1 e finalizar na ETAPA 2.
- Temperatura da Eluição: 70°C.
- Iniciar o aquecimento na ETAPA 4.

Passo	Poço	Nome	Tempo de espera	Tempo de mistura	Tempo magnético	Velocidade	Volume (µL)	Absorção
			(s)	(s)	(s)			
1	1	Llise / Beads	0	720	60	F	820 µL	Step
2	2	Ligação	0	120	30	F	350 µL	Step
3	3	Lavagem	0	60	30	F	400 µL	Step
4	4	Eluição	120	300	60	F	100 µL	Step
5	1	Descarte	0	30	0	F	100 µL	Normal

7. Materiais e Equipamento necessário, mas não fornecidos:

- EPI's conforme normas de segurança regulamentadas,
- Pipetas, Micropipetas,
- Ponteiras,
- Centrífugas / Vórtex,
- Equipamento Automatizado: **EXTRACTA 96 fabricado pela empresa LOCCUS DO BRASIL LTDA, BFEX-96 fabricado por Hangzhou Bigfish Bio-tech Co., Ltd.**
- 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: 96-Nova-LV** 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 na 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 guanidinium 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. BioTechniques, 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) Substitution of chloroform with bromochloropropane in the single-step method of RNA isolation. Anal Biochem, 222, 163-164.