

EC-XTRACT
Kit de extração magnético manual
13-BR500-25 – 250 extrações
Ficha de Instruções de Uso

1. Uso pretendido

O Kit de Extração EC-XTRACT – Modelo: 13-BR500-25 é indicado para a extração de DNA/RNA a partir de amostras biológicas que podem ser utilizadas de acordo com as recomendações ao usuário.

Rendimento: 250 extrações

O Kit é de uso EXCLUSIVO PARA PESQUISA *IN VITRO*.

1.1 Aplicação em Biologia Molecular

- Extração de ácido nucléico para:
 - Sequenciamento
 - RT-PCR
 - PCR
 - Reações enzimáticas

2. Características do Produto

O Kit de Extração magnético manual 13-BR500-25 é composto por:

Componente	Volume fornecido por frasco	Quantidade de frascos	Códigos
Solução de Lise c/Proteinase K	120 mL	01	13-BR500
<i>Beads</i> Magnéticas	4,25 mL	01	13-BR505
Solução de Ligação	80 mL	01	13-BR502
Solução de Lavagem	225 mL	01	13-BR503
Solução de Eluição	15 mL	01	13-BR504

2.1 Especificações

A solução de lise contendo proteinase K (20mg/mL), que compõe o *kit* de extração magnético manual desnatura as proteínas, demais contaminantes e detritos das amostras liberando assim os ácidos nucléicos e, em seguida, o RNA/DNA que está em suspensão na solução é capturado pelas *beads* magnéticas. As *beads* aderidas de RNA/DNA são capturadas por um ímã (*rack* magnética). Em uma próxima etapa, os contaminantes são removidos através de repetidas etapas de lavagem. Finalmente, os ácidos nucléicos são dissociados das *beads* magnéticas e retirados por eluição em tampão apropriado.

2.2 Tipos de amostras

Amostras de soro, sangue, plasma, fluidos corporais, vírus, bactérias, suspensões de células de fezes e tecidos biológicos previamente tratados e homogeneizados e de amostras colhidas em cotonetes acondicionados em solução conservante podem ser trabalhados com estes insumos.

3. Armazenamento

Entre 2°C e 8°C. Não Congelar.

4. Validade

O **Kit de Extração magnético manual - Modelo: 13-BR500-25** tem validade de 12 meses quando mantido fechado e armazenado corretamente.

5. Informação de Segurança

- O kit EC-XTRACT é destinado exclusivamente às práticas de laboratório, com a finalidade de purificação de DNA/RNA viral em *rack* magnética. Seu uso indevido ou diferente à finalidade é de responsabilidade exclusiva do usuário.
- Sempre que estiver trabalhando com soluções químicas e amostras biológicas, EPIs são necessários conforme normas de segurança regulamentadas.
- Evitar o contato dos reagentes com os olhos, pele e roupa. Em caso de contato, lavar abundantemente a região de contato com água corrente. Se o contato causar alguma reação alérgica ou efeito adverso, procurar um médico.
- Depois de receber o *kit* verificar se as embalagens dos componentes estão intactas ou se há algum vazamento dos líquidos. Se os frascos de tampões estiverem danificados ou com vazamento, usar luvas e óculos de proteção quando descartar os frascos para evitar acidentes.
- 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 os químicos e plásticos 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:

- Amostras de sangue total: utilizar 100 µL de sangue com anticoagulante para a extração.
- Soro e/ou plasma: utilizar 200 µL da amostra para a extração.
- Tecidos: 100 mg de amostra de tecido devem ser diluídos em 500 µL de solução salina para posterior trituração mecânica, centrifugar o material em 7.000 rpm durante 5 minutos. Trabalhar com o sobrenadante para o processo de extração.
- Saliva e amostras nasofaríngeas: 300 µL de amostra em solução de coleta diretamente na solução de extração.
- Amostras do ambiente: amostras de superfícies com suspeita de contaminação devem ser retiradas com *swab* de algodão, acondicionadas em 500 µL de solução salina, centrifugadas em 7.000 rpm durante 5 minutos, trabalhar com o sobrenadante. Amostras de esgoto podem ser trabalhadas diretamente.

6.2 Procedimento para extração com uso de *rack* magnético manual:

1. Em um microtubo de 2mL adicionar 447 µL de Solução de Lise para cada volume sugerido (em µL) de amostra.
2. Homogeneizar manualmente o tubo contendo as *Beads* magnéticas, e adicionar 15 µL, em cada microtubo já com a amostra.
3. Homogeneizar por 30 segundos em *vortex* e colocar os microtubos em 65°C em banho maria, banho seco ou estufa durante 10 minutos. A cada 2 minutos, agitar no *vortex* por 20 segundos.

4. Colocar o microtubo na *rack* magnética e deixar por 10 minutos até que as *beads* se aglomerem na parede do tubo pelo ímã da *rack*, deixando o sobrenadante completamente transparente.
5. Com os tubos na *rack* magnética e com auxílio de uma micropipeta, aspirar completamente o líquido evitando contato com as *beads*.
6. Retirar o microtubo da *rack* magnética e adicionar 300 µL de Solução de ligação.
7. Homogeneizar em *vortex* por 30 segundos.
8. Colocar o microtubo na *rack* magnética e deixar por 5 minutos até que as *beads* se prendam na parede do tubo pelo ímã da *rack*.
9. Com os tubos na *rack* magnética e com auxílio de uma micropipeta, aspirar completamente o líquido evitando contato com as *beads*.
10. Retirar o microtubo da *rack* magnética e adicionar 400 µL de Solução de lavagem.
11. Homogeneizar em *vortex* por 30 segundos.
12. Colocar o microtubo na *rack* magnética e deixar por 5 minutos até que as *beads* se prendam na parede do tubo pelo ímã da *rack*.
13. Com os tubos na *rack* magnética e com auxílio de uma micropipeta, aspirar completamente o líquido evitando contato com as *beads*.
14. Repetir este processo de lavagem com o Solução de lavagem, do passo 10 a 13, por mais uma vez.
15. Com os microtubos na *rack* magnética, colocar a *rack* com os microtubo para baixo (*rack* deve ficar de lado) aguardar por 5 minutos a evaporação total dos líquidos residuais.
16. Observação: não deixar mais do que o tempo recomendado, pois as *beads* poderão ficar aderidas entre si, favorecendo uma perda de rendimento para a etapa posterior.
17. Retirar o tubo da *rack* magnética sem resíduos de líquido, adicionar 50 µL do Eluição.
18. Homogeneizar por 15 segundos.
19. Recolocar o tubo na *rack* magnética e deixar a solução por 2 minutos.
20. Retirar o líquido com o DNA/RNA extraído e transferir o líquido para um novo microtubo.

O RNA/DNA extraído deverá 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.

7. Equipamento, reagentes e insumos necessários, mas não fornecidos

O EX-XTRACT pode ser utilizado manualmente ou alternativamente em equipamentos de extração de ácidos nucleicos automatizados:

- Para uso manual é necessária a aquisição de uma *rack* magnética para microtubos de 1,7 mL.
- Para uso em sistemas automatizados os componentes fornecidos podem ser distribuídos nas placas *deep well* específicas de cada equipamento:
- *Workstation* para PCR, micropipetas de volume variável (0,5 a 1.000 µL).
- Insumos: Microtubos de 1,0 a 2,0 uL, 0,2 µL, ponteiras (0,5 a 1.000 µL).

8. Garantia da Qualidade

A NOVA BIOTECNOLOGIA fornece garantia do produto **Kit de Extração magnético manual 13-BR500-25** por ela revendidos 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. ME

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.: 81867910005

11. Atendimento ao Consumidor

Tel: +55 (11) 4243-2356

www.novabiotecnologia.com.bre-mail: assessoria@novabiotecnologia.com.br sac@novabiotecnologia.com.br**12. Referências Bibliográficas**

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 J A 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.