

BIOPUR KIT Extração Mini Mag Universal SL

Instruções de Uso

1. USO PRETENDIDO

O BIOPUR Kit Mini Mag Universal SL é destinado para extração de DNA genômico, DNA bacteriano e DNA/RNA viral de alta qualidade a partir de amostras frescas ou congeladas, de sangue humano, soro, plasma, líquido cefalorraquidiano, sobrenadantes da cultura de células e outros fluidos corporais livres de células, líquido enxaguado de swabs, urina, sobrenadante da suspensão de fezes, lavado brocoalveolar ou escarro.

O procedimento é baseado na adsorção reversível de ácidos nucleicos em beads magnéticas sob condições de tampões apropriados. Após uma lise específica da amostra, utilizando o Tampão de Lise U e a Proteinase K (também lisozima, se necessário), as condições de ligação são ajustadas com a adição da solução de ligação (isopropanol). O DNA genômico e/ou DNA/RNA viral se liga às partículas magnéticas adicionadas (solução de beads) e é separado da solução por uma ferramenta magnética controlada pelo sistema Starlet. Após três etapas de lavagem dos ácidos nucleicos ligados às partículas, estes são finalmente eluídos no tampão de eluição U. Os ácidos nucleicos purificados podem ser usado diretamente em outras aplicações.

O BIOPUR Kit Mini Mag Universal SL é utilizado de forma automatizada em conjunto com o Sistema de Preparação de Amostras e Pipetagem - Starlet. Devido ao alto grau de pureza, o DNA/RNA extraído está pronto para ser utilizado nos mais variados segmentos laboratoriais, como PCR, PCR em tempo real, tipagem HLA, *Southern Blot*, inclusive em diagnóstico *in vitro*.

O produto é indicado para uso por profissionais treinados em técnicas de Biologia Molecular, em vários segmentos laboratoriais. Por não se tratar de material de uso específico em diagnóstico humano, quaisquer resultados gerados utilizando o procedimento de preparação de amostras em conjunto com qualquer análise de diagnóstico devem ser interpretados em conjunto com outras conclusões clínicas e laboratoriais. Para minimizar irregularidades nos resultados de diagnósticos, controles adequados devem ser empregados para dar suporte à avaliação diagnóstica.

2. CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO

O BIOPUR Mini Mag Universal SL possui várias características-chaves como: alta taxa de recuperação para baixos títulos de vírus e quantidades de ácidos nucleicos, alta reprodutibilidade, automação completa para diferentes tipos de amostra reduzindo ao máximo a necessidade de preparações manuais adicionais, processamento direto de tubos primários e uma utilização otimizada para placa de 96 poços.

Essas características reduzem o risco de erros do operador, aumentando a reprodutibilidade do processo e mantendo a flexibilidade dos tipos de amostras. A contaminação cruzada da amostra e o cruzamento do reagente são efetivamente eliminados.

Rendimento e qualidade do DNA genômico a partir de sangue:

A quantidade de DNA genômico purificado a partir de sangue depende da amostra e do número de células na amostra (que varia conforme a idade do paciente e seu estado de saúde - e conforme condições de transporte, armazenamento e idade das amostras).

Normalmente, uma amostra de 200µL de sangue total (contagem de células brancas - intervalo de 3×10^6 a 1×10^7 células/mL) de um indivíduo sadio rende de 3 a 6µg de DNA. Se uma amostra de sangue total

for misturada com soluções tampão contendo anticoagulantes, a concentração geral de leucócitos diminui e o rendimento do procedimento de extração de DNA é reduzido.

Rendimento e qualidade do DNA/RNA de patógenos:

A quantidade de DNA/RNA do patógeno purificado no procedimento depende do tipo de amostra, do conteúdo de vírus e bactérias, da fonte da amostra, do transporte, do armazenamento e da idade. O rendimento e a qualidade do DNA/RNA do patógeno isolado são adequados para qualquer sistema de detecção molecular.

Diferentes sistemas de amplificação variam em eficiência, dependendo da quantidade total de ácido nucleico presente na reação. Os eluatos derivados deste kit conterão Carreador de RNA, que excederá em muito a quantidade de ácido nucleico isolado.

Os rendimentos de ácidos nucleicos virais isolados de amostras biológicas são geralmente pouco concentrados e, portanto, quase impossíveis de determinar fotometricamente.

O kit é adequado para análise *downstream* com técnicas NAT, por exemplo PCR, qPCR, RT qPCR, LAMP, LCR. Os ensaios de diagnóstico devem ser realizados de acordo com as instruções do fabricante. Recomenda-se a RT-PCR quantitativa para determinar o rendimento de DNA ou RNA viral.

Nota 1: Se as beads estiverem visíveis no eluato, transferir o eluato para um novo tubo de reação e centrifugar por 1 min à velocidade máxima (por exemplo, 13000 rpm).

Nota 2: Na eletroforese em gel e na eletroforese capilar, o RNA extraído com o kit fornecido parece degradado porque o kit contém carreador de RNA, este é um RNA poli A em fragmentos de 100 a 1000 bases. O kit não é dedicado a aplicações que usam esse tipo de análise.

3. COMPOSIÇÃO DO KIT

INFORMAÇÕES PRINCIPAIS	1x96 (Amostra)	8x96
CÓDIGO DO PRODUTO	BP083-096	BP083-768
Tampão de Lise U	1 x 30 mL	1 x 240 mL
Tampão de Lavagem 1* (Concentrado)	1 x 75 mL	2 x 300 mL
Tampão de Lavagem 2* (Concentrado)	1 x 100 mL	4 x 125 mL
Tampão de Eluição U	1 x 40 mL	1 x 320 mL
Água livre de RNase	1 x 12 mL	1 x 60 mL
Proteinase K (liofilizada)*	2 x 40 mg	16 x 40 mg
Solução Beads Universal	2 x 1,6 mL	16 x 1,6 mL
Carreador RNA tipo 1 (liofilizado)*	2 x 500 µg	16 x 500 µg
Placa de Coleta Universal 2 mL	3 unid.	24 unid.
Placa de Eluição Universal	1 unid.	8 unid.
Filme Adesivo	3 unid.	24 unid.
Guia rápido	1 unid.	1 unid.

* Verificar item 9 - Reagentes e Equipamentos necessários, mas não fornecido e item 10 - Preparo dos Reagentes.

4. ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES

Todos os tampões e componentes do **BIOPUR Kit Mini Mag Universal SL**, exceto a Proteínase K e o Carreador RNA dissolvidos, devem ser armazenados em temperatura ambiente entre 15 e 30°C e, sob estas condições, são estáveis até a data de validade impressa na embalagem.

Antes de cada uso, verificar se todos os componentes estão em temperatura ambiente. Se houver precipitados nas soluções fornecidas, dissolver aquecendo-os cuidadosamente (até 30°C).

Proteinase K: A proteinase K dissolvida deve ser armazenada de 2 a 8°C por até dois meses. Para armazenamento por longos períodos, recomenda-se armazenar a -20°C, congelar e descongelar apenas uma vez. A Proteinase K dissolvida é estável conforme indicado na embalagem do kit.

Carreador de RNA: O carreador de RNA dissolvido deve ser armazenado a -20°C. A mistura dissolvida é estável conforme indicado na embalagem do kit.

Os **tampões de lavagem** diluídos com etanol ou isopropanol devem ser adequadamente fechados e armazenados em temperatura ambiente.

A **solução de ligação** (isopropanol) deve ser adequadamente fechada e armazenada à temperatura ambiente.

5. INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA

Quando e enquanto estiver trabalhando com produtos químicos, sempre utilizar jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Evitar o contato com a pele. Cumprir os requisitos legais para trabalhar com material biológico.

Se os frascos de tampão estiverem danificados ou vazando, use luvas e óculos de proteção ao descartar os frascos para evitar ferimentos.

Ver a seguir classificação de riscos e frases de segurança utilizadas internacionalmente, que se aplicam aos componentes do **BIOPUR Kit Mini Mag Universal SL**:

PRODUTOS	RISCOS
Tampão de Lise U	H302-315-319-P280-305+351+338
Proteinase K	H315-H319-H334-H335-P280-P305+P351+P338
LEGENDA DOS RISCOS	
H302	Perigoso se inalado;
H315	Irritante a pele;
H319	Irritante grave aos olhos;
H334	Pode causar sintomas de alergia ou asma ou dificuldades respiratórias se inalado;
H335	Pode causar irritação respiratória;
P280	Usar luvas / roupas de proteção / proteção para os olhos / proteção para o rosto
P305+P351+P338	EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Remover as lentes de contato, se presentes e fáceis de retirar. Continuar enxaguando.

Para mais informações, ler a ficha de segurança de produto químico.

6. AMOSTRAS E ARMAZENAMENTO, DE ACORDO COM O TIPO DE AMOSTRA BIOLÓGICA

O kit **BIOPUR Mini Mag Universal SL** é destinado para rápida preparação manual ou automatizada de DNA genômico, DNA bacteriano e DNA/RNA viral com alto grau de pureza a partir de amostras frescas ou congeladas de sangue humano, soro, plasma, líquido cefalorraquidiano, sobrenadantes da cultura de células e outros fluidos corporais livres de células, líquido enxaguado de swabs, urina, sobrenadante da suspensão das fezes, lavado brocoalveolar ou escarro.

NOTA IMPORTANTE: O protocolo foi otimizado para o isolamento do DNA total e RNA viral de até 200 µl de amostras líquidas.

Para rendimentos altos e reprodutíveis, é essencial o armazenamento apropriado da amostra. Os rendimentos podem variar de amostra para amostra, dependendo de fatores como a saúde do doador, idade da amostra, tipo de amostra, condições de transporte e armazenamento.

Sangue:

Os melhores resultados são obtidos com amostras de sangue fresco. As amostras de sangue (estabilizadas com EDTA ou citrato, mas não com heparina) podem ser armazenadas à temperatura ambiente (18 - 25°C) por 2 a 3 horas. Para armazenamento por curto período de tempo (até 24 h), as amostras devem ser armazenadas entre 2-8°C. Para armazenamento prolongado, recomenda-se congelar as amostras a -20°C ou -80°C. Evite ciclos de descongelamento e congelamento da(s) amostra(s) antes de isolar o DNA/RNA. Diferentes tubos primários, sistemas de coleta e anticoagulantes (exceto heparina) podem ser usados para coletar amostras de sangue para o procedimento.

Soro e plasma:

Após a coleta e centrifugação do soro, plasma, sangue (tratado com anticoagulantes como EDTA ou citrato, mas não com heparina), amostras de fluido sinovial ou outros fluidos corporais livres de células, swabs e amostras de fezes podem ser armazenados em gelo por 1-2 horas e por um curto período de tempo (até 24 h), de 2 a 8°C. Para armazenamento a longo prazo, recomenda-se o congelamento de amostras em alíquotas a -80°C. As amostras de plasma ou soro congeladas não devem ser descongeladas mais de uma vez. Deve-se evitar ciclos de descongelamento e o congelamento antes do isolamento do DNA/RNA viral. Isso leva à desnaturação e precipitação de proteínas, resultando em títulos virais reduzidos e portanto, rendimentos reduzidos de ácidos nucleicos virais. Além disso, o crioprecipitado formado durante o congelamento-descongelamento pode causar problemas. Se o crioprecipitado for visível, após o vórtex, eles devem ser sedimentados por centrifugação a aproximadamente 6,800x g por 3 minutos. O sobrenadante limpo deve ser aspirado, sem perturbar o sedimento e processado imediatamente. Esta etapa não reduzirá os títulos virais.

Swabs:

O protocolo trabalha com líquido enxaguado de swabs preparados frescos, bem como com swabs secos e com saliva fresca pré-tratada. O protocolo não foi validado para isolamento de RNA a partir de swabs armazenadas em tampões de armazenamento especiais de outros fornecedores.

Bactérias cultivadas ou suspensão(s) bacteriana(s):

As bactérias devem ser sedimentadas após o cultivo e suspensas em condições definidas; melhores resultados são obtidos com material fresco.

Processamento de amostras bacterianas:

O kit foi validado com meio adicionado de *Bacillus subtilis* isento de células. Para realizar uma extração quantitativa de DNA bacteriano de bactérias Gram-positivas, é necessária a adição de lisozima. Adicionar 5 µL de uma solução de lisozima a 10 mg/mL por volume de amostra de 200 µL ao tubo primário antes de iniciar o ensaio, incubar a 37°C ou à temperatura ambiente por um tempo adequado antes de iniciar o ensaio.

Urina:

As bactérias devem ser sedimentadas enquanto o sobrenadante é descartado (as contaminações da ureia podem inibir as reações de PCR). Para algumas aplicações, a urina fresca pode ser usada diretamente. Os melhores resultados são obtidos com material recém-precipitado (pellet).

Amostras de fezes:

Os melhores resultados são obtidos com material fresco. As amostras de fezes contêm DNases e RNases que realizam rapidamente a digestão e degradação do DNA e RNA. Amostras podem ser armazenadas a -80°C .

Sobrenadantes da cultura de células:

Os melhores resultados são obtidos com material fresco ou material que foi imediatamente congelado e armazenado a -20°C ou -80°C após a coleta do sobrenadante da cultura de células.

IMPORTANTE: A Mobius Life Science não se responsabiliza pelo uso de outros tipos de amostra que não os descritos no item 1. Uso pretendido ou que forem processadas alterando-se os protocolos de preparação de amostras.

7. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

7.1 Extração de ácidos nucleicos a partir de sangue, soro, plasma, fluidos corporais livres de células, urina, liquor, meio de transporte

Este tipo de amostra pode ser processado diretamente, sem preparação prévia.

Lembre-se de que o primeiro passo no equipamento é a pré-mistura de amostras. As amostras devem ser ao menos "pipetáveis", pois a presença de aglomerados e outros materiais sólidos leva a coágulos e impedem o fluxo de trabalho normal do processo. Recomenda-se o controle rigoroso das amostras para coagulação, misturando várias vezes antes do uso no instrumento.

7.2 Extração de ácido nucleico de líquido enxaguado de amostras de swab

a) A amostra também será usada para cultivo

- Cortar a parte relevante do swab e transferi-lo para um tubo de 2 mL livre de RNase/DNase;
- Adicionar 400 μL de soluções salinas fisiológicas ao swab;
- Agitar no *vortex* intensamente por 2-3 minutos e incubar por 10 minutos à temperatura ambiente;
- Retirar uma alíquota para cultivo;
- Transferir 350 μL do líquido enxaguado para um tubo primário. Opcional: se processado DNA bacteriano, 20 μL de lisozima podem ser adicionados a 200 μL de amostra na placa de coleta de 2,0 ml pelo robô.

NOTA: Isso não inclui nenhuma garantia de eficiência do método de cultivo usado.

b) A amostra não será usada para cultivo

- Cortar a parte relevante do swab e transferi-lo para um tubo de 2 ml livre RNase e DNase;
- Adicionar 400 μL de água livre de RNase ao swab;
- Agitar em *vortex* intensamente por 3 min. Opcional: incubar por 3 min a 95°C ;
- Transferir 350 μL do líquido enxaguado para um tubo primário. Opcional: se processado DNA bacteriano, 20 μL de lisozima podem ser adicionados a 200 μL de amostra na placa de coleta de 2,0 ml pelo robô.

7.3 Extração de ácido nucleico de escarro, secreções traqueais viscosas ou lavado brocoalveolar (LBA)

a) Amostras não viscosas:

- Transferir 1 mL de secreção traqueal ou lavado broncoalveolar para um tubo livre de RNase/DNase
- Centrifugar a $9.300 \times g$ (10.000 rpm) por 3 min;
- Descartar o sobrenadante sem perturbar o sedimento bacteriano;
- Ressuspender o sedimento bacteriano em 400 μL de água destilada ou água livre de RNase;
- Transferir a amostra para o tubo primário. Opcional: se processado DNA bacteriano, 20 μL de lisozima podem ser adicionados a 200 μL de amostra na placa de coleta de 2,0 ml pelo robô

Para isolamento de ácido nucleico viral, transferir 400 μL da amostra original para o tubo primário.

b) Amostra viscosa:

- Transferir 1 ml de secreção traqueal ou lavado broncoalveolar para um tubo livre de RNase e DNase;
- Adicionar 1 ml de solução saturada de acetilcisteína para a amostra (proporção amostra/tampão deve ser 1:1);
- Incubar a mistura por 10 min a 95° C com agitação para reduzir a viscosidade.

Para extração de DNA bacteriano:

- Centrifugar a 11.100 x g por 3 min;
- Descartar o sobrenadante sem perturbar o sedimento bacteriano;
- Ressuspender o sedimento bacteriano em 400 µL de água destilada ou água livre de RNase e transferi-lo para um tubo primário. Opcional: se for processado DNA bacteriano, 20 µl de lisozima podem ser adicionados a 200 µL de amostra na Placa de coleta de 2,0 ml pelo robô.

Para extração de ácidos nucleicos virais:

- Utilizar diretamente 400 µL da amostra pre-tratada e transferi-la para o tubo primário. Se a amostra ainda contiver partículas sólidas, evitá-las ao pipetar.

7.4 Extração de ácido nucleico viral do sobrenadante de fezes em suspensão

- Transferir 100 µL de amostra de fezes para um tubo de 2 ml e adicionar 900 µl de água livre de RNase;
- Agitar em vortex a amostra por 30 segundos, em seguida centrifugar por 1 minuto a 12.000 x g (13.000 rpm);
- Transferir 400 µL do sobrenadante contendo material viral para o tubo primário (evitar a aspiração de partículas em suspensão).

7.5 Extração de ácido nucleico bacteriano do sobrenadante de fezes em suspensão

- Transferir 100 µL de amostra de fezes para um tubo de 2 ml e adicionar 300 µl de água livre de RNase;
- Agitar em vortex a amostra por 30 segundos, em seguida centrifugar por 30 segundos a 3.000 rpm. (1.000 x g);
- Transferir 350 µL do sobrenadante contendo material bacteriano para o tubo primário (evitar aspiração de partículas em suspensão). Opcional: se processado DNA bacteriano, 20 µl de lisozima podem ser adicionados a 200 µl de amostra na placa de coleta de 2,0 ml pelo robô.

8. EQUIPAMENTOS E REAGENTES NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Ponteiras condutivas descartáveis - validadas pela Biometrix;
- Proveta (250 mL);
- Micropipeta monocal e ponteiras com filtro;
- Tubos primários;
- Vortex;
- Etanol 96-100%
- Isopropanol* >99,7% (grau biologia molecular)
- Lisozima;
- ddH₂O;
- Microtubos
- Luvas descartáveis.

9. PREPARO DOS REAGENTES

Imediatamente após o recebimento do produto, inspecionar o produto e seus componentes, bem como a embalagem, quanto a danos aparentes, qualidade e quantidades corretas. Se houver qualquer inconformidade, o distribuidor deve ser notificado. Se os frascos de tampão estiverem danificados, entre em contato com o distribuidor local. Em caso de derramamento de líquido, consulte a seção “Informações de segurança” (consultar item 5). Não utilizar componentes danificados do kit, pois seu uso pode levar ao mau desempenho do kit.

- Ao trabalhar com produtos químicos, usar sempre um jaleco de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção.
- Descartar as luvas se elas estiverem contaminadas.
- Não combinar componentes de kits diferentes, a menos que os números de lote sejam idênticos.
- Evitar a contaminação microbiana dos reagentes do kit.
- Para minimizar o risco de infecções por material potencialmente infeccioso, recomenda-se trabalhar em cabine de fluxo laminar de ar.
- Este kit deve ser usado apenas por pessoal treinado.

Antes de iniciar o protocolo preparar:

- **Isopropanol:** Separar de 200 ml de Isopropanol >99,7% em frasco dedicado ao uso junto ao kit.
- **Tampão de Lavagem 1:** Adicionar o volume indicado de Isopropanol >99,7% ao Tampão de Lavagem 1 concentrado. Indicar no rótulo do frasco que o isopropanol foi adicionado.
- **Tampão de Lavagem 2:** Adicionar o volume indicado de etanol 96-100% ao Tampão de Lavagem 2 concentrado e misturar bem. Indicar no rótulo do frasco que o etanol foi adicionado.
- **Proteinase K e Carreador de RNA:** Adicionar o volume indicado de Água livre de RNase em cada frasco e misturar bem.

REAGENTES	1x96	8x96
Tampão de Lavagem 1 (Concentrado)	75 mL Adicionar 50 mL de Isopropanol >99,7%	300 mL Adicionar 200 mL de Isopropanol >99,7%
Tampão de Lavagem 2 (Concentrado)	100 mL Adicionar 234 mL de etanol 96-100%	125 mL Adicionar 292 mL de etanol 96-100%
Proteinase K	40 mg Adicionar 1300 µL de Água livre de RNase em cada frasco	
Carreador RNA	500 µg Adicionar 1000 µL de Água livre de RNase em cada frasco	

- **Controle Interno:** O uso do STARlet e do BIOPUR Kit Mini Mag Universal SL em combinação com sistemas de amplificação disponíveis no mercado pode exigir a introdução de um controle interno (CI) no procedimento de purificação para monitorar a eficiência da preparação da amostra. Portanto, o DNA ou RNA de controle interno (CI) deve ser combinado com a solução de carreador de RNA fornecida no kit em uma mistura.

IMPORTANTE:

- Se o controle interno for estável para uso direto nas amostras, ele pode ser adicionado logo antes de iniciar a preparação da amostra .
- Se o controle interno for instável para uso direto nas amostras, ele pode ser adicionado no carreador RNA transportador. Neste caso, reconstituir o tampão considerando um volume suficiente para 100 reações de controle interno e completar com água livre de RNase até 1mL, conforme fórmula abaixo:

Volume de Reconstituição do Carreador (µL):

VFC + VA

Legenda:

VFC ou Volume Final de Controle interno: (CI x 100)

VA ou Volume de Água Livre de RNase: 1000 - (CI x 100)

CI ou Controle Interno: volume de controle interno indicado pelo fabricante para 1 reação (em µL)

10. PREPARANDO E CARREGANDO O SISTEMA HAMILTON

- 1) Ligar o Sistema de Preparação de Amostras e Pipetagem - Starlet;
- 2) Antes de começar com um novo kit, adicionar etanol ou isopropanol aos tampões de lavagem correspondentes (verificar o volume nas etiquetas dos frascos). Pegar uma alíquota de isopropanol da garrafa estoque para um frasco novo (solução de ligação), a fim de evitar contaminação da garrafa de estoque.
- 3) Dissolver (ou descongelar) quatro frascos de Proteinase K e carreador de RNA. Os quatro frascos com solução de beads estão prontos para uso. Cada um dos quatro frascos é adequado para 192 amostras.
- 4) Colocar todos os reagentes em temperatura ambiente. Quando necessário, misturar delicadamente e dissolver quaisquer precipitações aquecendo a 30 °C até completa dissolução. Mexer gentilmente para evitar formação de espuma.
- 5) Selecionar o protocolo e iniciar o método;
- 6) Colocar as amostras, os materiais e reagentes necessários corretamente na plataforma do equipamento como mostrado no software, e iniciar o protocolo.

Nota: A placa de 96 poços pode ser usada sequencialmente. É possível usar qualquer múltiplo de 8 poços nas placas em uma primeira execução e fazer o restante dos poços em execuções posteriores. Isso pode ser definido no software, mas é necessário vedar os poços usados com os filmes seladores fornecidos.

IMPORTANTE:

- É recomendado fornecer pelo menos 500µL de amostra biológica por tubo de amostra, para prevenir erros de distribuição de pipetagem durante o processo.
- Não dispensar os volumes requeridos de reagentes nos tubos até o exato momento de começar um ensaio.
- Deixar os reagentes nos reservatórios por períodos prolongados resultará em evaporação (especialmente soluções com álcool e isopropanol) e precipitação de sais, resultando em perda de condições de ligação. Por esta razão, reagentes preparados muito antes do ensaio devem ser descartados e um novo reservatório deve ser carregado na plataforma, com reagentes frescos.

11. PROTOCOLO

Lise

As amostras são lisadas em uma placa de poço profundo a temperaturas elevadas na presença do Tampão de Lise U e Proteinase K/Carreador de RNA

Ligação do DNA / RNA genômico

Após a adição de Solução de Ligação e Solução de beads magnéticas ao lisado, o DNA/RNA é ligado à superfície das esferas.

Remoção de contaminantes residuais

Os contaminantes são lavados com eficiência, enquanto o DNA/RNA permanece ligado às esferas magnéticas.

Eluição

O DNA/RNA é finalmente eluído no tampão de eluição U. O DNA/RNA eluído está pronto para uso em diferentes aplicações subsequentes.

12. SOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Problema	Possível Causa	Comentários e Sugestões
Baixa quantidade de DNA extraído	Lise insuficiente Quantidade baixa de solução de beads	Reduzir a quantidade de material de partida diluindo as amostras previamente Misturar a solução de beads vigorosamente antes de usar
Baixa concentração de DNA extraído	Muito Tampão de eluição Armazenamento incorreto do material de partida Tampões de lavagem incorretos	Eluir o DNA com um volume menor de Tampão de eluição. Alterar o volume no arquivo de execução para 50 µl. Certificar-se de que a quantidade correta de etanol/isopropanol seja adicionada aos Tampões de Lavagem e armazenados corretamente. Verificar se o armazenamento do material de partida estava correto. Evitar ciclos repetidos de descongelamento e congelamento do material da amostra.
DNA degradado	Armazenamento incorreto do material de partida Material velho	Verificar se o armazenamento do material de partida estava correto. Certificar-se de que o material de partida seja armazenado em condições apropriadas (-20°C/-80°C), evitando múltiplos ciclos de descongelamento e congelamento do material.

<p>O DNA não apresenta bom desempenho em aplicações downstream (por exemplo, PCR em tempo real ou PCR)</p>	<p>Nenhum resultado de PCR para DNA genômico</p> <p>Transporte de etanol durante a eluição</p> <p>Transporte de sal durante a eluição</p>	<p>Alguns ensaios de PCR podem não funcionar na presença de carreador de RNA. Usar água livre de RNase em vez do RNA transportador fornecido.</p> <p>Devido ao procedimento de isolamento muito suave, pode acontecer que o DNA genômico isolado forme um aglomerado. Para resolver isso, a etapa primária de desnaturação da PCR a 95 °C deve ser prolongada para 5 minutos.</p> <p>Certificar-se de que a quantidade correta de etanol seja adicionada aos Tampões de Lavagem e armazenada corretamente. Além disso, verifique a posição da placa de poço profundo na posição magnética.</p> <p>Verificar os Tampões de Lavagem quanto a precipitados de sal. Se houver precipitados visíveis, resolva-os aquecendo cuidadosamente até 30°C.</p> <p>Certificar-se de que Tampões de Lavagem estejam em temperatura ambiente.</p>
<p>DNA eluído possui coloração amarronzada</p>	<p>Pequena parte das partículas magnéticas são deixadas na eluição</p>	<p>Centrifugar em velocidade máxima por 1 min e transferir o sobrenadante para um novo tubo</p>
<p>Baixa quantidade de RNA viral extraído</p>	<p>Nenhum carreador de RNA adicionado</p> <p>Quantidade baixa de solução de beads</p>	<p>Certificar-se que carreador de RNA suficiente foi adicionado na placa de poços profundos</p> <p>Misturar a solução de beads vigorosamente antes de usar</p>
<p>Baixa concentração de RNA viral extraído</p>	<p>Muito Tampão de eluição</p> <p>Armazenamento incorreto do material de partida</p> <p>Tampões de lavagem incorretos</p>	<p>Eluir o DNA com um volume menor de Tampão de eluição. Alterar o volume no arquivo de execução para 50 µl.</p> <p>Certificar-se de que a quantidade correta de etanol/isopropanol seja adicionada aos Tampões de Lavagem e armazenados corretamente.</p> <p>Verificar se o armazenamento do material de partida estava correto.</p> <p>Evitar ciclos repetidos de descongelamento e congelamento do material da amostra.</p>

RNA degradado	Armazenamento incorreto do material de partida Material velho	Verificar se o armazenamento do material de partida estava correto. Certificar-se de que o material de partida seja armazenado em condições apropriadas (-20°C/-80°C), evitando múltiplos ciclos de descongelamento e congelamento do material.
O RNA não apresenta bom desempenho em aplicações downstream (por exemplo, RT-PCR em tempo real ou RT-PCR)	Transporte de etanol durante a eluição Transporte de sal durante a eluição	Aumentar o tempo de secagem para remover o etanol no arquivo do programa. Verificar os Tampões de Lavagem quanto a precipitados de sal. Se houver precipitados visíveis, resolva-os aquecendo cuidadosamente até 30°C. Certificar-se de que Tampões de Lavagem estejam em temperatura ambiente.
RNA eluído possui coloração amarronzada	Pequena parte das partículas magnéticas são deixadas na eluição	Centrifugar em velocidade máxima por 1 min e transferir o sobrenadante para um novo tubo

13. CONTROLE DE QUALIDADE

O fabricante e o distribuidor fornecem garantia de todos os produtos por ela revendidos dentro dos seguintes termos:

Garantia

O produto **BIOPUR Kit Mini Mag Universal SL** é garantido pela Mobius Life 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:

Tem garantia restrita:

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

Extinção da garantia:

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

12. INFORMAÇÕES PARA PEDIDO

PRODUTO	TAMANHO DA EMBALAGEM	CÓDIGO DO PRODUTO
BIOPUR Kit Extração Mini Mag Universal SL - 96 testes	1 x 96 testes	BP083-096
BIOPUR Kit Extração Mini Mag Universal SL - 768 testes	8 x 96 testes	BP083-768

13. INFORMAÇÕES DO FABRICANTE E DISTRIBUIDOR

Mobius Life Science Indústria e Comércio de Produtos para Laboratórios LTDA

Rua Paraíso do Norte, 866 - CEP: 83.324-221 - Pinhais - PR

CNPJ: 04.645.160/0001-49

Telefone: (41) 3401-1850 / 0800-7101850

E-MAIL: info@mobiuslife.com.br | WEBSITE: www.mobiuslife.com.br

Responsável Técnica: Flávia Rosenstein Schiel - CRBio-07 34.360/07-D