

BIOPUR KIT EXTRAÇÃO MINI SPIN PLUS

Instruções de Uso

1. USO PRETENDIDO

O **BIOPUR Kit Extração Mini Spin Plus** é a ferramenta ideal para uma extração e purificação manual simples, rápida e eficiente de DNA genômico empregando tubo-filtro. O DNA extraído está pronto para ser utilizado nos mais variados segmentos laboratoriais, inclusive em diagnóstico in vitro. As seguintes amostras foram validadas para uso com esse kit:

- Sangue total;
- Buffy coat;
- Cultura de células;
- Soro, plasma e outros fluidos corpóreos.

NOTA: também é possível purificar DNA viral e bacteriano de diversas amostras clínicas em conjunto com Tampão de Lise T1, referência modelo: BP-T1 (comercializado separadamente).

Devido à alta pureza, o DNA genômico extraído fica pronto para uso em um grande painel de aplicações em Biologia Molecular ou poderá ser armazenado a -20°C para uso subsequente.

Aplicações em Biologia Molecular:

- PCR;
- Southern Blotting;
- Reações Enzimáticas.

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.

Para outras validações entrar em contato com o nosso Laboratório.

2. CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO

O kit permite purificação de DNA genômico com pureza A260/280 entre 1.60 e 1.90 e concentração típica de 40-60 ng/uL.

| ESPECIFICAÇÕES | | | | |
|---|--|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| Amostra Biológica | Rendimento Médio em 200 μL de sangue* | Volume de Eluição | Capacidade de Ligação da membrana | Tempo de Preparo/amostra |
| Até 200 μL ou 5×10^6 células | 4-6 μg^{**} | 60-200 μL | 60 μg | 30 minutos |

IMPORTANTE:

*O rendimento e a qualidade do DNA genômico extraído é aplicável em qualquer sistema de detecção de teste molecular. Quando aplicado para testes de diagnóstico, os resultados e qualidade de DNA devem estar de acordo com as especificações do fabricante do kit de detecção.

**A quantidade de DNA purificado depende do tipo de 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).

de teste molecular. Quando aplicado para testes de diagnóstico, os resultados e qualidade de DNA devem estar de acordo com as especificações do fabricante do kit de detecção.

3. COMPOSIÇÃO DO KIT

| INFORMAÇÕES PRINCIPAIS | 10 EXTRAÇÕES | 50 EXTRAÇÕES | 250 EXTRAÇÕES |
|--|--------------|--------------|---------------|
| Tampão de Lise S (Tampa Verde) | 2,2 mL | 11 mL | 55 mL |
| Tampão de Lavagem SI (Tampa Azul) | 5,5 mL | 27 mL | 135 mL |
| Tampão de Lavagem SII (Concentrado) * (Tampa Branca) | 1,3 mL | 6,5 mL | 33 mL |
| Tampão de Eluição S** (Tampa Vermelha) | 2,2 mL | 11 mL | 55 mL |
| Proteinase K - Tipo L * | 6 mg | 30 mg | 5 x 30 mg |
| Tampão de Proteinase | 0,4 mL | 1,5 mL | 5 x 1,5 mL |
| Tubo Spin S | 10 unid | 50 unid | 250 unid |
| Tubos de Coleta | 200 unid | 100 unid | 500 unid |
| Tubo de Eluição S | 10 unid | 50 unid | 250 unid |
| Instrução de uso | 1 unid | 1 unid | 1 unid |

* Para preparação das soluções e condições de armazenamento ver próximos itens.

** Composição do Tampão de Eluição BE: 5mM Tris /HCl, pH 8.5

4. ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES

Todos os componentes do kit podem ser armazenados em temperatura ambiente (18-25°C) e são estáveis até a data de validade descrita na embalagem.

A Proteinase K - Tipo L após reconstituída deve ser armazenada a -20°C; recomenda-se dividir a solução em alíquotas para o armazenamento no freezer.

Durante armazenagem, especialmente em baixa temperatura, um precipitado branco pode se formar no Tampão de Lise S. Este precipitado pode ser facilmente dissolvido incubando o frasco a 70°C antes do uso.

Atenção: os Tampões de Lise S e Tampão de Lavagem SI possuem sais caotrópicos. Utilizar luvas e óculos de proteção!

CUIDADO: Os Tampões de Lise S e Tampão de Lavagem SI possuem hidrocloreto de guanidina que pode formar compostos altamente reativos quando combinados com alvejante (hipoclorito de sódio). NÃO ADICIONAR alvejante ou soluções ácidas diretamente com o descarte do lisado.

5. INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA

Sempre que estiver trabalhando com soluções químicas e amostras biológicas, EPIs são recomendados conforme normas de segurança regulamentadas.

Depois de receber o kit verificar se as embalagens dos componentes estão danificadas ou se há 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. É recomendado o uso de ponteiros com filtro.

Toda a centrifugação deve ser realizada em temperatura ambiente.

Não misturar componentes de kits diferentes, se não forem o mesmo lote.

Evitar contaminação microbiana dos reagentes do kit.

Para minimizar risco de infecções é recomendado trabalhar em câmara de fluxo laminar.

Este kit deve ser usado apenas por pessoal treinado.

Armazenar os químicos e plásticos em condições próprias para uso em laboratório.

Os resíduos gerados pelo uso dos kits não foram testados. 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 Biometrix solicitando a Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico - FISPQ do produto.

Ver a seguir classificação de riscos e frases de segurança utilizadas internacionalmente, que se aplicam aos componentes do **BIOPUR Kit Extração Mini Spin Plus**:

| Componente | Conteúdo Perigoso | Símbolo | Legendas de Risco | Legendas de Segurança |
|----------------------|----------------------------------|---------|-------------------|-----------------------|
| Tampão de Lise S | Hidrocloreto de Guanidina 36-50% | ✘ Xn* | R22-36 | S26-39 |
| Tampão de Lavagem SI | Hidrocloreto de Guanidina 36-50% | ✘ Xn* | R 10-22-36-67 | S 16-26-39 |
| Proteinase K | Proteinase K liofilizada | ✘ Xn* | R 36/37/38/42 | S 22-24-26-36/37 |

Descrição dos Riscos

R 10 - Inflamável

R 22 - Perigoso se ingerido

R 36 - Irritante aos olhos

R 36/37/38 - Irritante aos olhos, sistema respiratório e pele

R 36/38 - Irritante aos olhos e pele

R 42 - Pode causar sensibilização por inalação

R 67 - Vapores podem causar enjôos e tonturas

Descrição de Segurança

S 16 - Manter afastado de fontes de ignição - Não fumar!

S 22 - Não inalar o pó

S 24 - Evite contato com a pele

S 26 - Em caso de contato com os olhos, lave imediatamente com bastante água e procure médico

S 36/37 - Utilize roupas protetivas e luvas

S 37/39 - Utilize luvas apropriadas e proteção para os olhos/rosto

S 39 - Utilize proteção para olhos e rosto

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

Para isolamento de DNA genômico de amostras tratadas com anticoagulantes (citrato ou EDTA), estas podem ser armazenadas em temperatura ambiente, 4°C ou congeladas.

Amostras de sangue estocadas em temperatura ambiente ou 4°C por alguns dias ou semanas respectivamente, podem ainda permitir isolamento de DNA. Porém, o rendimento e a qualidade do DNA podem diminuir devido ao armazenamento prolongado nestas condições.

Sangue congelado por anos é adequado para o isolamento de DNA. Maiores rendimento e qualidade de DNA são obtidos com sangue fresco.

7. PROCEDIMENTO

O **BIOPUR Kit Extração Mini Spin Plus** abrange as seguintes etapas:

1. Lise da amostra;
2. Ligação do DNA genômico à membrana do tubo;
3. Lavagem da membrana e eliminação do etanol;
4. Eluição do DNA genômico.

A lise é realizada através da incubação da amostra biológica em uma solução caotrópica na presença de Proteinase K.

Condições apropriadas de ligação de DNA na membrana sílica dos tubos-filtro são alcançadas pela adição de etanol ao lisado.

O processo de ligação é reversível e específico para ácidos nucleicos.

Etapas de lavagem removem eficientemente os contaminantes.

O DNA genômico puro é finalmente eluído sob condições de baixa força iônica em um tampão de eluição ligeiramente alcalino.

7.1 Procedimentos de Eluição

É possível adaptar o método de eluição e o volume de Tampão de Eluição para a aplicação de interesse. Em adição ao método padrão (recuperação de 70-90%) existem várias modificações possíveis. Usar Tampão de Eluição S pré-aquecido a 56 °C para seguir com um destes procedimentos:

- **Alto Rendimento:** realizar duas etapas de eluição com o volume indicado no protocolo. Aproximadamente 90-100% do ácido nucleico ligado poderá ser eluído.

- **Alta concentração:** realizar uma etapa de eluição com 60% do volume indicado no protocolo. A concentração de DNA será maior que na eluição padrão. O rendimento máximo de ácido nucleico ligado é de aproximadamente 80%.

- **Alto Rendimento e Alta Concentração:** colocar metade do volume de tampão de eluição indicado no protocolo, incube por 3 minutos e centrifuge. Repetir este processo novamente. Assim, aproximadamente 85-100% do ácido nucleico ligado é eluído no volume padrão com alta concentração.

- **Eluição conveniente:** por conveniência, o Tampão de Eluição a temperatura ambiente pode ser usado. Isto resultará em rendimento menor (aproximadamente 20%) comparado com a eluição com tampão pré-aquecido.

A eluição também pode ser realizada com tampão Tris-EDTA (TE) com pH igual ou maior que 8. Isso aumentará a estabilidade do DNA especialmente durante longos períodos e/ ou armazenagem a 4 °C ou temperatura ambiente com múltiplo uso por inibição de DNases. No entanto, o EDTA pode interferir em algumas aplicações posteriores dependendo de sua concentração final.

Para um ótimo desempenho do DNA nas aplicações, recomendamos eluir com o tampão de eluição fornecido e armazenar, especialmente em períodos longos, a -20 °C. Ciclos de congelamento e descongelamento não irão interferir com a maioria das aplicações.

O desempenho da amplificação de fragmentos longos (maiores que 10kb) e a sensibilidade de detecção de quantidades de DNA podem ser reduzidos após ciclos múltiplos de congelamento e descongelamento ou por armazenagem prolongada a 4 °C ou temperatura ambiente devido à fragmentação do DNA e adsorção a superfícies.

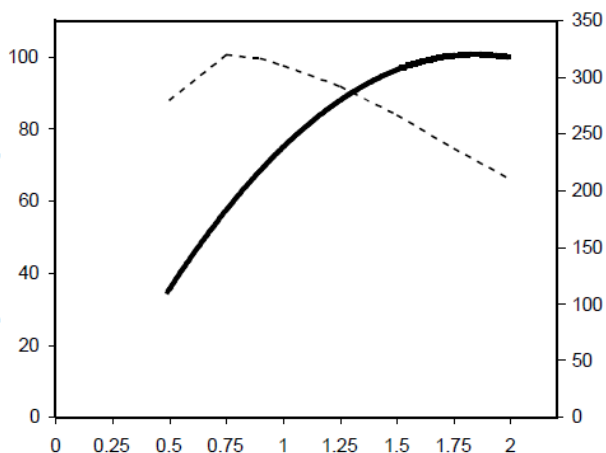


Figura: Relação do rendimento de DNA (linha contínua) e concentração (linha pontilhada) no volume de eluição.

O DNA genômico foi purificado de 10 mL de sangue total e eluído em diferentes volumes de eluição como indicado. O maior rendimento de DNA foi obtido com 1.5-2.0 ml de volume de eluição. A maior concentração de DNA foi obtida com aproximadamente 0.75 mL de volume de eluição. Além disso, rendimento e concentração podem variar uma vez que são dependentes do tipo de amostra (sangue, soro, plasma), origem do sangue (humano ou animal) e qualidade das amostras (fresca, antiga, congelada, com coágulos, etc).

8. EQUIPAMENTOS E REAGENTES NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Etanol 96-100%;
- PBS 1X (opcional);
- Microtubos 1,5mL extras;
- Micropipeta monocal;al;
- Ponteiras com filtro descartáveis;
- Minicentrífuga de tubo;
- *Vórtex*;
- Termomixer ou banho-seco (56 °C);

9. PREPARO DOS REAGENTES

Antes de iniciar o protocolo preparar:

- **Tampão de Lavagem SII:** Adicionar o volume indicado de Etanol 96-100% ao Tampão de Lavagem SII concentrado. Marcar no rótulo do frasco uma indicação de que o etanol foi adicionado.
- **Proteinase K:** Adicionar o volume indicado de Tampão de Proteinase para dissolver a Proteinase K liofilizada.

| REAGENTE | 10 EXTRAÇÕES | 50 EXTRAÇÕES | 250 EXTRAÇÕES |
|-------------------------------------|---------------------------------------|--|---|
| Tampão de Lavagem SII (concentrado) | 1,3 mL | 6,5 mL | 33 mL |
| | Adicionar 5,2 mL de Etanol 96-100% | Adicionar 26 mL de Etanol 96-100% | Adicionar 132 mL de Etanol 96-100% |
| Proteinase K | 6 mg | 30 mg | 5 x 30 mg |
| | Adicionar 270 µL de Tampão Proteinase | Adicionar 1,35 mL de Tampão Proteinase | Adicionar 1,35 mL de Tampão Proteinase em cada frasco |

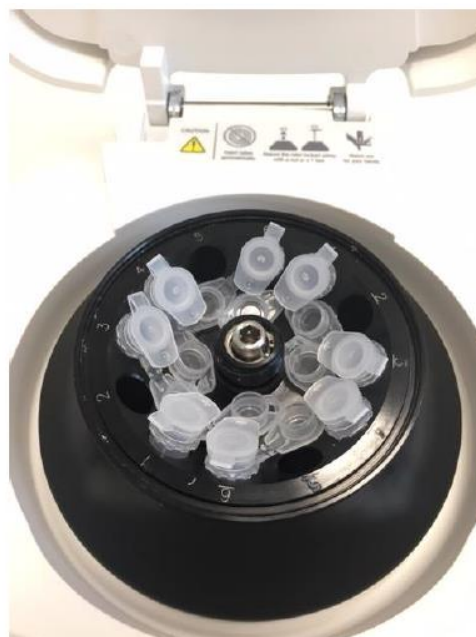
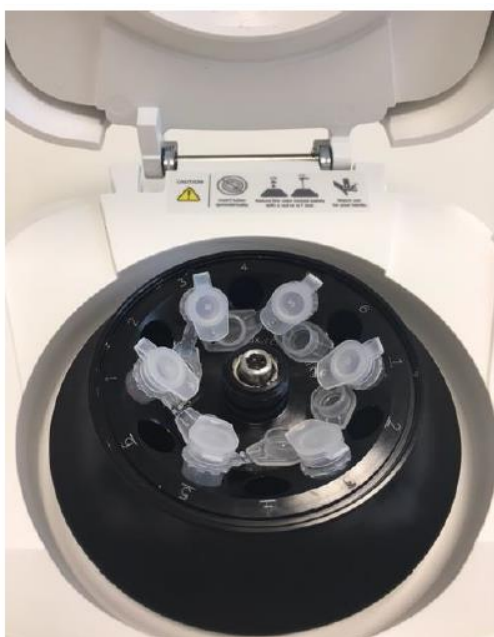
10. PROTOCOLOS

Antes de iniciar o procedimento:

- Ligar e ajustar o termomixer ou banho seco na temperatura indicada no protocolo;
- Verificar se o Tampão de Lavagem SII e Proteinase K foram preparados de acordo com o item 9;
- Pré-aquecer o Tampão de Eluição S na temperatura indicada no protocolo;

NOTA 1: As velocidades de rotação (rpm) necessárias podem variar de uma marca de centrífuga para outra.

NOTA 2: Para a etapa de eluição (última centrifugação), observar atentamente para que a disposição dos tubos (tubo de eluição + tubo-filtro) seja realizada de maneira adequada, conforme ilustrado abaixo. Esta disposição será necessária para alguns modelos de minicentrífuga.



- Inserir 6 ou 8 tubos por rotor, intercalando os espaços;

- Posicionar os tubos para que as tampas fiquem dentro do rotor.



PROTOCOLO 1

- **Extração de DNA genômico de 200 µL de sangue total humano ou de mamífero**

- 1) Adicionar 25 µL de Proteinase K e 200 µL de amostra biológica (sangue, fluídos corporais ou buffy coat proveniente de 1mL de sangue) em um microtubo de centrifugação de 1,5 mL (não fornecido no kit).

* Para amostras com volume menor que 200 µL, completar o volume com PBS 1X.

* Se estiver purificando DNA viral, recomenda-se utilizar 200 µL de soro ou plasma.

* Se for utilizar cultura celular, resuspende até 5×10^6 células em um volume final de 200 µL de PBS 1X.

*Se for utilizar materiais ricos em leucócitos como buffy, aplicar menor volume ou diluir as amostras em PBS 1X estéril.

- 2) Adicionar 200 µL de Tampão de Lise S e homogeneizar vigorosamente em vórtex (10 a 20 segundos).

NOTA: esta etapa a homogeneização vigorosa é importante para obter um alto rendimento e pureza de DNA.

- 3) Incubar os microtubos a 56°C por 15 minutos.

O lisado deve se tornar amarronzado durante a incubação. Aumentar o tempo de incubação com Proteinase K (até 30 minutos) e homogeneizar em vórtex uma ou duas vezes vigorosamente durante a incubação se estiver processando amostras antigas ou amostras de sangue com coágulos.

- 4) Adicionar 210 µL de Etanol (96-100%) e homogeneizar em vórtex.

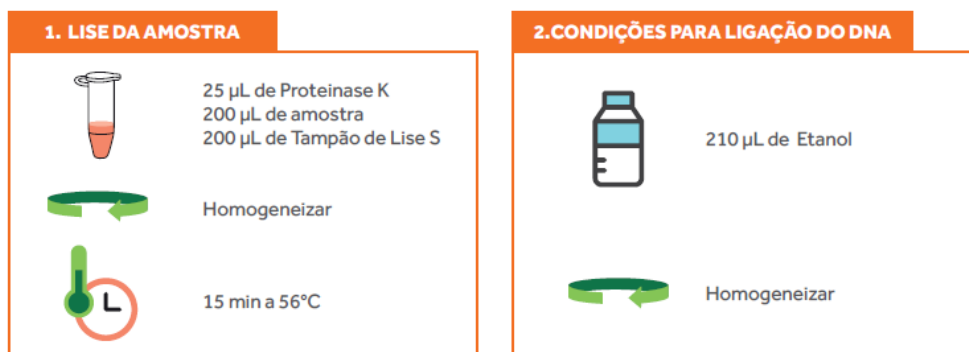
- 5) Transferir toda a mistura para o Tubo Spin S. Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g. Se as amostras não passarem completamente pelo tubo-filtro, repetir o passo de centrifugação com uma velocidade maior (até 15.000 x g). Descartar o Tubo de Coleta com o filtrado.

- 6) Colocar o tubo-filtro sob um novo Tubo de Coleta e adicionar 500 µL de Tampão de Lavagem SI. Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g. Descartar o Tubo de Coleta com o filtrado.

- 7) Colocar o tubo-filtro sob um novo Tubo de Coleta e adicionar 600 µL de Tampão de Lavagem SII. Centrifugar por um minuto a 11.000 x g. Descartar somente o filtrado e reutilizar o Tubo de Coleta.

- 8) Colocar o tubo-filtro novamente sob o Tubo de Coleta e centrifugar por um minuto a 11.000 x g (o etanol residual é removido durante este passo).

- 9) Colocar o tubo-filtro em um Tubo de Eluição S e adicionar 200 µL de Tampão de Eluição S previamente aquecido (56°C). Dispensar o tampão diretamente sobre a membrana de sílica. Incubar por 1 minuto à temperatura ambiente. Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g.



3. LIGAÇÃO DO DNA


Transferir toda a mistura para o Tubo Spin S.



Centrifugar 11000 x g por 1 minuto

4. LAVAGEM DA MEMBRANA DE SÍLICA


500 μ L Tampão de Lavagem SI



Centrifugar 11000 x g por 1 minuto



600 μ L Tampão de Lavagem SII



Centrifugar 11000 x g por 1 minuto

5. SECAGEM DA MEMBRANA DE SÍLICA


Centrifugar 11000 x g por 1 minuto

6. ELUIÇÃO


Adicionar 200 μ L de Tampão de Eluição S



Aguardar 1 minuto



Centrifugar 11000 x g por 1 minuto

PROTOCOLO 2

- Extração de DNA genômico de escarro e lavado broncoalveolar

A) Pré-Tratamento das amostras: amostras viscosas podem entupir as colunas do Tubo Spin S, portanto, para maior eficiência do procedimento de extração, realizar o pré-tratamento das amostras, conforme abaixo:

- 1) Adicionar 150 μ L de Dithiothreitol 0,1 % (DTT) para 150 μ L de amostra (solução 1:1);
- 2) Agitar vigorosamente por 10 minutos a 14000 x g;
- 3) Incubar at 37 °C por 15 minutos (agitando diversas vezes durante a incubação);
- 4) Após o período de incubação, agitar novamente;
- 5) Seguir o protocolo de extração.

B) Extração

- 1) Adicionar 25 μ L de Proteinase K e 200 μ L de amostra tratada em um microtubo de centrifugação de 1,5 mL (não fornecido no kit). Para amostras com volume menor que 200 μ L, completar o volume com PBS 1X.

- 2) Adicionar 200 µL de Tampão de Lise S e homogeneizar vigorosamente em vórtex (10 a 20 segundos).

NOTA: esta etapa a homogeneização vigorosa é importante para obter um alto rendimento e pureza de DNA.

- 3) Incubar os microtubos a 70°C por 30 minutos.
- 4) Adicionar 210 µL de Etanol (96-100%) e homogeneizar em vórtex.
- 5) Transferir toda a mistura para o Tubo Spin S. Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g.
Se as amostras não passarem completamente pelo tubo-filtro, repetir o passo de centrifugação com uma velocidade maior (até 15.000 x g). Descartar o Tubo de Coleta com o filtrado.
- 6) Colocar o tubo-filtro sob um novo Tubo de Coleta e adicionar 500 µL de Tampão de Lavagem SI. Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g. Descartar o Tubo de Coleta com o filtrado.
- 7) Colocar o tubo-filtro sob um novo Tubo de Coleta e adicionar 600 µL de Tampão de Lavagem SII. Centrifugar por um minuto a 11.000 x g. Descartar somente o filtrado e reutilizar o Tubo de Coleta.
- 8) Colocar o tubo-filtro novamente sob o Tubo de Coleta e centrifugar por um minuto a 11.000 x g (o etanol residual é removido durante este passo).
- 9) Colocar o tubo-filtro em um Tubo de Eluição S e adicionar 50 µL de Tampão de Eluição S previamente aquecido (70°C). Dispensar o tampão diretamente sobre a membrana de sílica. Incubar por 1 minuto à temperatura ambiente. Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g.
- 10) Adicionar no mesmo tubo-filtro mais 50 µL de Tampão de Eluição S previamente aquecido (70°C). Dispensar o tampão diretamente sobre a membrana de sílica. Incubar por 1 minuto à temperatura ambiente. Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g.

NOTA: O volume total de eluição será 100 µL.

1. LISE DA AMOSTRA



25 μ L de Proteinase K
200 μ L de amostra
200 μ L de Tampão de Lise S



Homogeneizar



30 min a 70°C

2. CONDIÇÕES PARA LIGAÇÃO DO DNA



210 μ L de Etanol



Homogeneizar

3. LIGAÇÃO DO DNA



Transferir toda a mistura para o Tubo Spin S.



Centrifugar 11000 x g por 1 minuto

4. LAVAGEM DA MEMBRANA DE SÍLICA



500 μ L Tampão de Lavagem SI



Centrifugar 11000 x g por 1 minuto



600 μ L Tampão de Lavagem SII



Centrifugar 11000 x g por 1 minuto

5. SECAGEM DA MEMBRANA DE SÍLICA



Centrifugar 11000 x g por 1 minuto

6. ELUIÇÃO



Adicionar 50 μ L de Tampão de Eluição S



Aguardar 1 minuto



Centrifugar 11000 x g por 1 minuto



Adicionar 50 μ L de Tampão de Eluição S



Aguardar 1 minuto



Centrifugar 11000 x g por 1 minuto

11. CONTROLE DE QUALIDADE

| PROBLEMA | CAUSA PROVÁVEL | AÇÃO CORRETIVA RECOMENDADA |
|---------------------------------------|--|---|
| Ausência ou baixa concentração de DNA | <i>Baixa concentração de leucócitos na amostra</i> | - Preparar buffy coat da amostra de sangue: centrifugar o sangue total em temperatura ambiente (3.300 x g) por 10 minutos. Três diferentes camadas serão visíveis após a centrifugação. Os leucócitos estarão concentrados na camada intermediária (= buffy coat). |
| | <i>Lise celular incompleta</i> | - Amostra não misturada completamente com Tampão de Lise/Proteinase k. Imediatamente após a adição do tampão de lise a mistura deve ser homogeneizada em vórtex vigorosamente. - Digestão com Proteinase K não foi eficiente. Nunca adicionar Proteinase K diretamente no Tampão de Lise. Incubar por 15-30 minutos a 56 °C. |
| | <i>Reagentes não foram adicionados apropriadamente</i> | - Preparar os tampões e a solução de Proteinase K de acordo com as instruções (Item 9). Adicionar etanol ao lisado antes de adicionar à coluna. |
| | <i>Eluição subótima do DNA da coluna</i> | - Pré-aquecer o Tampão de Eluição a 56 °C antes da eluição. Adicionar o Tampão de Eluição diretamente no centro da membrana de sílica. - A eficiência da eluição diminui drasticamente se for realizada com tampões com pH < 7.0. Utilizar soluções levemente alcalinas como Tampão BE (pH 8.5). - Misturar vigorosamente a mistura durante o passo de incubação a 70/56 °C, especialmente quando estiver trabalhando com amostras de sangue antigas ou com coágulos. |
| Baixa qualidade do DNA | <i>Reagentes não aplicados corretamente</i> | - Preparar os tampões e a solução de Proteinase K de acordo com as instruções (Item 9). Adicionar etanol ao lisado e misturar antes de adicionar a mistura à coluna. |
| | <i>Lise incompleta das células</i> | - Amostra não misturada completamente com Tampão de Lise/Proteinase k. Imediatamente após a adição do Tampão de Lise a mistura deve ser homogeneizada vigorosamente em vórtex. |

| | | |
|---|---|---|
| | | - Digestão com Proteinase K não foi eficiente. Nunca adicionar Proteinase K diretamente no Tampão de Lise. Incubar por 15-20 minutos a 56 °C. |
| | <i>RNA na amostra</i> | - Se DNA livre de RNA for necessário, adicionar 20ul de solução RNase A (20 mg/ml) antes de adicionar o Tampão de Lise. |
| | <i>Amostras de sangue antigas ou com coágulos</i> | <p>- Para isolamento de DNA de amostras de sangue antigas ou com coágulos, recomenda-se prolongar a incubação com Proteinase K para 30 minutos homogeneizando em vórtex várias vezes durante este passo.</p> <p>- Para amostras muito difíceis de lisar, o rendimento pode ser melhorado com os seguintes passos: Incubar o lisado por 10-15 minutos em temperatura ambiente e em seguida incubar por 15 minutos a 56 °C. Para limpar o lisado, centrifugar rapidamente por 30-60 segundos após a lise para sedimentar os coágulos não lisados antes de adicionar o etanol.</p> <p>Em caso de amostras muito difíceis é possível que os passos de lavagem com Tampão de Lavagem SII não sejam suficientes para remover todos contaminantes. Um passo de lavagem adicional com um tampão que contenha sais caotrópicos é recomendado, como por exemplo uma solução água/Tampão de Lise/etanol (1:1:1). Após este passo extra, o passo de lavagem com Tampão de Lavagem SII deve ser realizado para remover completamente os sais caotrópicos do tampão de lavagem.</p> |
| Desempenho subótimo do DNA genômico em reações enzimáticas | Carry-over de etanol | - Certificar que todo etanol dos Tampões de Lavagem SII foram removidos antes do passo de eluição. Se o nível do tampão de lavagem após a segunda lavagem alcançar a coluna por qualquer razão, descartar o filtrado, recolocar a coluna no tubo de coleta e centrifugar novamente. |
| | Contaminação do DNA com substâncias inibitórias | <p>- Se o DNA tiver sido eluído em Tampão TE (Tris/EDTA), certificar que o EDTA não interfira nas aplicações posteriores, ou repurificar o DNA e eluir em Tampão de Eluição.</p> <p>- Se preparar o DNA de amostras de sangue antigas ou com coágulos, estender o passo de incubação com Proteinase K por 30</p> |

| | | |
|--|--|--|
| | | minutos e homogeneizar em vórtex uma ou duas vezes durante este passo. -Se a razão A_{260}/A_{280} do eluído for menor que 1.6, repetir o passo de purificação com o seguinte procedimento: Adicionar 1 volume de Tampão de Lise 5 e 1 volume de etanol ao eluído, adicionar na coluna e prosseguir com o passo 3 do protocolo. |
|--|--|--|

12. INFORMAÇÕES PARA PEDIDO

| PRODUTO | TAMANHO DA EMBALAGEM | CÓDIGO DO PRODUTO |
|--|----------------------|-------------------|
| BIOPUR Kit Extração Mini Spin Plus - 50 | 50 testes | BP100-50 |
| BIOPUR Kit Extração Mini Spin Plus - 250 | 250 testes | BP101-250 |

13. GARANTIA DA QUALIDADE

A Mobius Life Science fornece garantia de todos os produtos por ela revendidos dentro dos seguintes termos:

O produto do BIOPUR Kit Extração Mini Spin Plus é garantido pela Mobius 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.
- Extinção da garantia: Quando não for utilizado de acordo com sua finalidade de aplicação.

14. INFORMAÇÕES DO FABRICANTE

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

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

15. DISTRIBUIDOR

Biometrix Diagnóstica Ltda.

Rua Estrada da Graciosa, 1081, Curitiba - Paraná - Brasil - CEP: 82.840-360

Tel.: (41) 2108-5250

Fax: (41) 2108-5252

DDG: 0800 726 0504

E-mail: biometrix@biometrix.com.br

Site: www.biometrix.com.br

CNPJ: 06.145.976/0001-39

Responsável Técnica: Flávia Stival - CRF/PR: 26565