

BIO GENE

Extração de gDNA

Instruções de uso
Instrucciones de uso
Usage instructions

ÍNDICE

Finalidade	3
Princípio de Ação	3
Apresentação	3
Reagentes	4
Equipamentos e Insumos Operacionais	4
Condições de Armazenamento e Transporte	4
Cuidados Especiais	5
Amostras	5
Procedimento	5
A . Preparo das Soluções de Trabalho	6
B . Extração do DNA	6
1. Lise das Amostras	6
2. Ligação	6
3. Lavagem	7
4. Eluição	7
Limitações do Processo	7
Referências Bibliográficas	7
Atendimento ao Consumidor	7
Simbologia Universal	8

FINALIDADE

Produto desenvolvido para a extração e purificação de DNA genômico de amostras de sangue total e cultura de células.

Os ácidos nucleicos obtidos podem ser utilizados para variadas aplicações como PCR, hibridização, sequenciamento, etc.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

O kit **Bio Gene Extração de gDNA** é um produto desenvolvido para o isolamento e purificação de DNA genômico de amostras biológicas.

O método utilizado é a extração por membrana de sílica. O processo é realizado em 4 etapas: 1) Lise celular: rompimento celular para liberação dos ácidos nucleicos; 2) Ligação: ligação seletiva do ácido nucleico à membrana de sílica; 3) Lavagem: retirar as impurezas residuais; 4) Eluição: liberação do ácido nucleico da membrana de sílica. No final do processo, temos o ácido nucleico concentrado e com alta pureza.

Reagente	Apresentação	
	50 preparações	250 preparações
R1	1 x 11 mL	1 x 55 mL
R2	1 x 22 mL	1 x 110 mL
R3	1 x 7 mL	1 x 33 mL
R4	1 x 13 mL	1 x 30 mL
R5	1 x 1,5 mL	4 x 1,75 mL
R6	1 x 50 unid	1 x 250 unid
R7	3 x 50 unid	3 x 250 unid
R8	2 x 50 unid	2 x 250 unid

REAGENTES

R1. Tampão de Lise: Solução tampão, Hidrocloro de Guanidina e surfactante.

R2. Lavagem 1: Solução tampão, Hidrocloro de Guanidina, álcool e surfactante.

R3. Lavagem 2: Solução tampão e conservante.

R4. Água Livre de DNase.

R5. Proteinase K: Enzima Proteinase K, surfactante e estabilizantes.

R6. Colunas: Tubo de polipropileno com membrana de sílica.

R7. Tubos Coletores (2 mL): Tubo polipropileno.

R8. Tubos Coletores (1,5 mL): Tubo polipropileno.

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior.
- Instrução de uso (manual).

Materiais necessários, mas não contidos no kit:

- 1 - Etanol 96-100%
- 2 - PBS 1X pode ser requerido por algumas amostras
- 3 - Micropipetas e ponteiros estéreis com filtro (0,5-10µL, 10-100µL, 100-1000µL)
- 4 - Microcentrífuga
- 5 - Agitador Vórtex
- 6 - Bloco de aquecimento
- 7 - Equipamento de Proteção Individual (luvas, jaleco, óculos)

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

O kit pode ser transportado em temperaturas entre 15 e 30°C. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

A temperatura de armazenamento é entre 15 e 30°C.

Após o primeiro uso, é recomendado armazenar o reagente Proteinase K (R5) a -20°C.

CUIDADOS ESPECIAIS

1- Somente para uso profissional.

2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.

3- Manusear e descartar todas as amostras biológicas, reagentes e materiais utilizados para realização do ensaio como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos. Evitar o contato direto com as amostras biológicas e os reagentes. Evitar derrames ou aerossol. Os resíduos devem ser manuseados e descartados de acordo com as medidas de segurança adequadas.

4- Procedimentos de biologia molecular, tais como a extração de ácidos nucleicos, transcrição reversa, amplificação e detecção, requerem pessoal qualificado para evitar o risco de resultados errados, especialmente devido à degradação de ácidos nucleicos contidos nas amostras ou contaminação da amostra por produtos de amplificação.

5- É necessário dispor de áreas separadas para a extração/preparação de reações e para a amplificação/detecção de produtos. Nunca introduzir um produto de amplificação na área destinada para a extração ou preparação de produtos de amplificação.

6- Evitar o congelamento e descongelamento repetido dos reagentes e amostras.

7- Não usar o kit após a data de validade.

8- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

9- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

10- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

11- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Kit para extração de DNA genômico de amostras de sangue total ou cultura de células. As amostras devem ser coletadas e armazenadas de acordo com as recomendações do laboratório para testes moleculares.

PROCEDIMENTO

Atenção:

Os reagentes Tampão de Lise (**R1**), e Lavagem 1 (**R2**) contém Sal de Guanidina, e devem ser manipulados utilizando EPIs adequados (jalecos, luvas e óculos). Estes reagentes não devem ser descartados em Solução Ácida ou de Hipoclorito de Sódio devido a formação de componentes reativos.

A. Preparo das Soluções de Trabalho

Ressuspender o reagente **R3** conforme mostrado na tabela abaixo:

Reagente	Apresentação	
	50 Preparações	250 Preparações
R3 - Lavagem 2 (concentrado)	Adicionar 28 mL de Etanol 96-100%	Adicionar 132 mL de Etanol 96-100%

Antes de iniciar a extração:

- 1- Observar se o reagente Lavagem 2 (**R3**) está preparado.
- 2- Configurar o bloco de aquecimento a 70°C.
- 3- Preaquecer o volume do reagente Água livre de DNase (**R4**) a 70°C para eluição.

B. Extração do gDNA

1. Lise das Amostras

- 1.1 Pipetar 200µL de amostra (sangue total ou cultura de células) à temperatura ambiente, em Tubo Coletor de 1,5 mL (**R8**).
- 1.2 Adicionar 25µL de Proteinase K (**R5**)* ao Tubo Coletor de 1,5 mL contendo a amostra e homogeneizar.
- 1.3 Em seguida, pipetar 200µL de Tampão de Lise (**R1**) e homogeneizar vigorosamente (10-15 segundos).
- 1.4 Incubar por 15 minutos a temperatura de 70°C.
- 1.5 Adicionar 200µL de Etanol (96-100%) a cada Tubo Coletor de 1,5 mL contendo amostra e homogeneizar por vórtex (10-15 segundos).

2. Ligação

- 2.1 Identificar a Coluna (**R6**) dentro do Tubo Coletor de acordo com a amostra que está sendo purificada.
- 2.2 Transferir o volume total da amostra (~625µL) para respectiva Coluna e em seguida centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g. Se a Coluna não estiver completamente seca, deve-se centrifugar novamente (aprox. 15.000 x g).
- 2.3 Após a centrifugação, transferir a Coluna para novo Tubo Coletor (**R7**) e descartar o Tubo Coletor com o filtrado.

* Após o uso, armazenar a - 20° C.

3. Lavagem

- 3.1 Adicionar 400µL do reagente Lavagem 1 (**R2**) a cada Coluna contendo amostra.
- 3.2 Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g.
- 3.3 Transferir a Coluna para o novo Tubo Coletor (**R7**) e descartar o Tubo Coletor com o filtrado.
- 3.4 Adicionar 600µL do reagente Lavagem 2 (**R3**) preparado.
- 3.5 Centrifugar por 1 minuto a 11.000 x g.
- 3.6 Transferir a Coluna para o novo Tubo Coletor (**R7**) e descartar o Tubo Coletor com o filtrado.
- 3.7 Centrifugar por 1 minuto a ≥ 15.000 x g.

4. Eluição

- 4.1 Transferir a Coluna para um Tubo Coletor de 1,5 mL (**R8**), e descartar o Tubo Coletor com o filtrado.
- 4.2 Adicionar 60~100µL de Água livre de DNase (**R4**) preaquecido a 70°C. Dispensar diretamente no centro da membrana.
- 4.3 Incubar a temperatura ambiente por 1 minuto.
- 4.4 Centrifugar por 1 minuto a ≥ 15.000 x g, e descartar a Coluna.
- 4.5 Armazenar o DNA eluído a -20°C, caso não seja utilizado imediatamente. Para longos períodos de armazenamento é recomendado estocar o DNA à -70°C.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Contaminações cruzadas que ocorrem durante a coleta da amostra, processamento, transporte e armazenamento poderão ocasionar em degradação da mesma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vingataramin, L.; Frost, H. E. A single protocol for extraction of gDNA from bacteria and yeast. Vol 58. University of Sherbrooke, Canada, 2015.

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente

Tel.: 0800 031 5454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit na ANVISA: 10269360297

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES		INFLÁMVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	CUIDADO		PERIGO



Extração de gDNA

Español . Instrucciones de uso

REF K205

Revisión: Febrero/2020

INDICE

Finalidad	3
Principio de Acción	3
Presentación	3
Reactivos	4
Equipamientos e Insumos Operacionales	4
Condiciones de Almacenamiento y Transporte	4
Cuidados Especiales	5
Muestras	6
Procedimiento	6
A . Preparación de Soluciones de Trabajo	6
B . Extracción de DNA	7
1. La lisis de muestras	7
2. Conexión	7
3. Lavado	7
4. Elución	8
Limitaciones del Proceso	8
Referencias Bibliográficas	9
Asistencia al Consumidor	9
Simbología Universal	10

FINALIDAD

Producto desarrollado para la extracción y purificación de DNA genómico de sangre total y cultivo de células. Los ácidos nucleicos obtenidos pueden ser utilizados para diversas aplicaciones como PCR, la hibridación, secuenciación, etc.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

El kit **Bio Gene Extração de gDNA** es un producto desarrollado para el aislamiento y purificación de DNA a partir de muestras biológicas.

El método utilizado es la extracción de la membrana de sílice. El proceso se lleva a cabo en cuatro etapas: 1) Lisis Celular: la disrupción celular para liberar los ácidos nucleicos; 2) Conexión: la unión selectiva de ácido nucleico a la sílice membrana; 3) Lavado: para eliminar las impurezas residuales; 4) Elución: liberar el ácido nucleico a partir de la membrana de sílice. Al final del proceso nos hemos concentrado de ácido nucleico con alta pureza.

Reactivo	Presentación	
	50 preparativos	250 preparativos
R1	1 x 11 mL	1 x 55 mL
R2	1 x 22 mL	1 x 110 mL
R3	1 x 7 mL	1 x 33 mL
R4	1 x 13 mL	1 x 30 mL
R5	1 x 1,5 mL	4 x 1,75 mL
R6	1 x 50 unid	1 x 250 unid
R7	3 x 50 unid	3 x 250 unid
R8	2 x 50 unid	2 x 250 unid

REACTIVOS

R1. Tampón de Lisis: Solución tampón, Hidrocloruro de Guanidina y surfactante.

R2. Lavado 1: Solución tampón, Hidrocloruro de Guanidina, alcohol y surfactante.

R3. Lavado 2: Solución tampón y conservante.

R4. Agua Libre de DNasa.

R5. Proteinasa K: Enzima Proteinasa K, surfactante y estabilizantes.

R6. Columnas: Tubo de polipropileno con una membrana de sílice.

R7. Tubos de Recogida (2 mL): Tubo de polipropileno.

R8. Tubos de Recogida (1,5 mL): Tubo de polipropileno.

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERCIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en la cuadro anterior.
- Instrucciones de uso (manual).

Materiales necesarios, pero no contenidos en el kit:

- 1- Etanol de 96-100%
- 2- PBS 1X puede ser necesario para algunas muestras
- 3- Micropipetas y punteras esterilizadas con filtro (0,5-10µL, 10-100µL, 100-1000µL).
- 4- Microcentrífuga
- 5- Vórtex
- 6- Bloque de calefacción
- 7- Equipo de protección personal (guantes, bata de laboratorio, gafas)

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

El transporte puede realizarse a temperaturas entre 15 y 30°C. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad.

La temperatura de almacenamiento es de entre 15 y 30°C.

Después del primer uso, se recomienda almacenar el reactivo Proteinasa K (R5) a -20°C.

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solamente para el uso profesional.**
- 2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.**
- 3- Manipular y desechar todas las muestras biológicas, reactivos y materiales utilizados para la realización del ensayo como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Evitar contacto directo con las muestras biológicas y los reactivos. Evitar derrames o aerosol. Los residuos deben ser manipulados y desechados de acuerdo con las medidas de seguridad adecuadas.**
- 4- Procedimientos de biología molecular, tales como la extracción de ácidos nucleicos, transcripción inversa, amplificación y detección requieren personal calificado para evitar el riesgo de resultados errados, especialmente debido a la degradación de ácidos nucleicos contenidos en las muestras o contaminación de la muestra por productos de amplificación.**
- 5- Es necessário disponer de áreas separadas para la extracción/preparación de reacciones y para la ampliación/detección de productos. Nunca introducir un producto de amplificación en la área destinada para la extracción o preparación de productos de amplificación.**
- 6- Evitar el congelamiento y descongelamiento repetido de los reactivos y muestras.**
- 7- No usar el kit después de la fecha de vencimiento.**
- 8- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para a eliminación de reactivos y materiales biológicos se hace de acuerdo con la legislación vigente.**
- 9- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.**

10- No utilice el producto en caso de daños em su embalaje.

11- Es esencial que los instrumentos y equipos estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimiento periódicos.

MUESTRAS

Kit para la extracción de DNA genómico de sangre total y cultivo de células. Las muestras deben ser recogidos y almacenados de acuerdo con las recomendaciones del laboratorio para el análisis molecular.

PROCEDIMIENTO

Atención:

Reactivos Tampón de Lisis (**R1**), y Lavado 1 (**R2**) contiene Sal de Guanidina, y deben ser manejados usando el EPIs apropiado (batas, guantes y gafas). Estos reactivos no deben ser desechados en Solución de Hipoclorito de Sodio o Ácido debido a la formación de los componentes reactivos.

A. Preparación de Soluciones de Trabajo

Resuspender **R3** reactivos como se muestra en la siguiente tabla:

Reactivos	Volume de Ressuspensão	
	50 Preparativos	250 Preparativos
R3 - Lavado 2 (concentrado)	Adicionar 28 mL de Etanol 96-100%	Adicionar 132 mL de Etanol 96-100%

Antes de comenzar la extracción:

1- Tenga en cuenta que lo reactivo de Lavado 2 (**R3**) se prepara.

2- Configurar el bloque de calefacción a 70°C.

3- Precalentar el volumen del reactivo Agua Libre de DNasa (**R4**) a 70°C para la elución.

B. Extracción de gDNA

1. La lisis de muestras

1.1 Pipetear 200 µL de muestra (sangre total y cultivo de células) a temperatura ambiente, en Tubo de Recogida de 1,5 mL (**R8**)

1.2 Adicionar 25 µL de Proteinasa K (**R5**)* a la Tubo de Recogida de 1,5 mL que contiene la muestra y mezclar.

1.3 Pipetear 200 µL de Tampón de Lisis (**R1**) y agitar vigorosamente (10-15 segundos).

1.4 Incubar durante 15 minutos a temperatura de 70°C.

1.5 Adicionar 200 µL de Etanol (96-100%) a cada Tubo de Recogida de 1,5 mL que contiene la muestra y mezclar en vórtex (10-15 segundos).

2. Conexión

2.1 Identificar la Columna (**R6**) en el Tubo de Recogida de acuerdo con la muestra que está siendo purificada.

2.2 Transferir el volumen total de la muestra (~625 µL) para la Columna respectiva y luego se centrifuga durante 1 minuto a 11.000 x g. Si la Columna no está completamente seca, se debe centrifugó de nuevo (aprox. 15.000 x g).

2.3 Después de la centrifugación, transferir la Columna para nuevo Tubo de Recogida (**R7**) y desechar el Tubo de Recogida con el filtrado.

3. Lavado

3.1 Adicionar 400µL del reactivo Lavagem 1 (**R2**) en cada Columna que contiene la muestra.

3.2 Centrifugar durante 1 minuto a 11.000 x g.

* Después del uso, almacenar a - 20°C.

3.3 Transferir la Columna para nuevo Tubo de Recogida (**R7**) y desechar el Tubo de Recogida con el filtrado.

3.4 Adicionar 600µL del reactivo de Lavado 2 (**R3**) preparado.

3.5 Centrifugar durante 1 minuto a 11.000 x g.

3.6 Transferir la Columna para nuevo Tubo de Recogida (**R7**) y desechar el Tubo de Recogida con el filtrado.

3.7 Centrifugar durante 1 minuto a $\geq 15.000 \times g$.

4. Elución

4.1 Transferir la Columna a un Tubo de Recogida de 1,5 mL (**R8**) y desechar el Tubo de Recogida con el filtrado.

4.2 Adicionar 60~100µL de Agua Libre de DNasa (**R4**) precalentado a 70°C. Dispensar directamente en el centro de la membrana.

4.3 Incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto.

4.4 Centrifugar durante 1 minuto a $\geq 15.000 \times g$, y descartar la Columna.

4.5 Almacenamiento del DNA se eluyó a -20°C si no se utiliza inmediatamente. Para el almacenamiento a largo plazo, se recomienda guardar el DNA -70°C.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Contaminaciones cruzadas que ocurren durante la colecta de la muestra, procesamiento, transporte y almacenamiento podrán ocasionar resultados falsos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.Vingataramin, L.; Frost, H. E. A single protocol for extraction of gDNA from bacteria and yeast. Vol 58. University of Sherbrooke, Canada, 2015.

ASISTENCIA AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente

Tel.: 0800 031 5454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit en la ANVISA: 10269360297

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DEL CATÁLOGO



NÚMERO DE LOTE



FECHA DE FABRICACIÓN



ESTABLE HASTA
(último día del mês)



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)



CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO



DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO



PRECAUCIÓN



ELABORADO POR



CONTROL



CONTROL POSITIVO



CONTROL NEGATIVO



RIESGO BIOLÓGICO



INFLAMABLE



CORROSIVO



TÓXICO



PELIGRO

BIO GENE

Extração de gDNA

English . Usage instructions

REF K205

Review: February/2020

INDEX

Function	3
Principle of Action	3
Presentation	3
Reagents	4
Equipaments and Operational Inputs	4
Transportation and Storage Conditions.....	4
Special Care	5
Samples	6
Procedure	6
A . Preparation of Working Solutions	6
B . DNA Extraction	6
1. Samples Lysis	6
2. Binding.....	7
3. Washing	7
4. Elution	8
Process Limitations	8
Bibliographic References	8
Customer Service	8
Universal Symbology	9

FUNCTION

Product developed for genomic DNA extraction and purification whole blood and cell culture.

The nucleic acids obtained can be used for different applications like PCR, Hibridization, Sequencing, etc.

PRINCIPLE OF ACTION

The **Bio Gene Extração de gDNA** kit is a product developed for extraction and purification of genomic DNA in biological samples.

The method used is the extraction by silica membrane. The process is carried out in 4 steps: 1) Cell Lysis: cell disruption for the release of nucleic acids; 2) Binding: selective binding of nucleic acid to silica membrane; 3) Washing: to remove residual impurities; 4) Elution: release the nucleic acid from silica membrane. At the end of the process we have concentrated nucleic acid with high purity.

Reagent	Presentation	
	50 preps	250 preps
R1	1 x 11 mL	1 x 55 mL
R2	1 x 22 mL	1 x 110 mL
R3	1 x 7 mL	1 x 33 mL
R4	1 x 13 mL	1 x 30 mL
R5	1 x 1.5 mL	4 x 1.75 mL
R6	1 x 50 unid	1 x 250 unid
R7	3 x 50 unid	3 x 250 unid
R8	2 x 50 unid	2 x 250 unid

REAGENTS

- R1. Lysis Buffer:** Buffer solution, Guanidine Hydrochloride and surfactant.
- R2. Wash 1:** Buffer solution, Guanidine Hydrochloride, alcohol and surfactant.
- R3. Wash 2:** Buffer solution and preservative.
- R4. DNase Free Water.**
- R5. Proteinase K:** Enzyme Proteinase K, surfactant and stabilizers.
- R6. Columns:** Polypropylene tube with a silica membrane.
- R7. Collectors Tubes (2 mL):** Polypropylene tube.
- R8. Collectors Tubes (1.5 mL):** Polypropylene tube.

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials contained in the kit:

- Reagents described in the table above.
- Usage instructions (manual).

Materials required, but not included in the kit:

- 1- 96-100% Ethanol
- 2- PBS 1X may be required for some samples
- 3- Micropipettes and sterile filter pipette tips (0.5-10 μ L, 10-100 μ L, 100-1000 μ L).
- 4- Microcentrifuge
- 5- Vortex
- 6- Heating block
- 7- Personal protective equipment (gloves, lab coat, glasses)

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The kit may be transported between 15 and 30°C. Protect from light and avoid moisture.

The storage temperature is between 15 and 30°C.

After first use, is recommended to store the Proteinase K reagent (R5) -20°C.

SPECIAL CARE

1- For professional use only.

2- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.

3- Handle and dispose of all biological samples, reagents and materials as it contain infectious agents. Avoid direct contact with biological samples and reagents. Avoid spills and aerosol. Handle and dispose the waste in accordance with appropriate security procedures.

4- It is required skilled personnel for the molecular biology procedures in order to minimize the risk of erroneous results, degradation of nucleic acids contained in the samples or even sample contamination by amplicons.

5- It is necessary to have separate areas for the extraction / preparation of reactions and for the amplification / detection of products. Never introduce an amplification product in the area intended for the extraction or preparation of amplification products.

6- Avoid repeated thawing and freezing of the reagents.

7- Do not use reagents after expiration date.

8- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

9- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.

10- Do not use the product in case of damaged packaging.

11- It is essential that the instruments and equipment used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Kit for genomic DNA extraction from whole blood or cell culture. Samples must be collected and stored according to the laboratory's recommendations for molecular testing.

PROCEDURE

Attention:

The Lysis Buffer (**R1**) and Wash 1 (**R2**) reagents contains Guanidine Salt, and must be handled using suitable PPEs (coats, gloves and goggles). These reagents must not be disposed of on Acid Solution or on Sodium Hypochlorite due to the formation of reactive components.

A. Preparation of Working Solutions

Resuspend **R3** reagent as shown in the table below:

Reagent	Presentation	
	50 Preps	250 Preps
R3 - Wash 2 (concentrated)	Add 28 mL of Ethanol 96-100%	Add 132 mL of Ethanol 96-100%

Before starting the extraction:

- 1- Note if the reagent Wash 2 (**R3**) is prepared.
- 2- Set the heating block at 70°C.
- 3- Preheat the volume of the DNase free water (**R4**) reagent at 70°C to elution.

B. DNA extraction

1. Samples Lysis

1.1 Pipette 200µL of sample (whole blood or cell culture) at room temperature in Collector Tube 1.5 mL (**R8**).

- 1.2 Add 25µL of Proteinase K (**R5**)* to the Collector Tube 1.5 mL with sample and mix.
- 1.3 Then, pipette 200µL of Lysis Buffer (**R1**) and shake vigorously (10-15 seconds).
- 1.4 Incubate for 15 minutes at temperature 70°C.
- 1.5 Add 200µL of Ethanol (96-100%) to each Collector Tube 1.5 mL with sample and mix by vortexing (10-15 seconds).

2. Binding

- 2.1 Identify the Column (**R6**) into Collector Tube according to the sample which is being purified.
- 2.2 Transfer the total of lysed sample volume (~ 625µL) into the respective Column and then centrifuge for 1 minute at 11,000 x g. If the Column is not completely dried, it must be centrifuged again (approx. 15,000 x g).
- 2.3 After centrifugation, transfer the Column to new Collector Tube (**R7**) and discard the Collector Tube with the filtrate.

3. Washing

- 3.1 Add 400µL of Wash 1 (**R2**) to each Column containing sample.
- 3.2 Centrifuge for 1 minute at 11,000 x g.
- 3.3 Transfer the Column to new Collector Tube (**R7**) and discard the Collector Tube with the filtrate.
- 3.4 Add 600µL of Wash 2 (**R3**) prepared.
- 3.5 Centrifuge for 1 minute at 11,000 x g.
- 3.6 Transfer the Column to new Collector Tube (**R8**) and discard the Collector Tube with the filtrate.
- 3.7 Centrifuge for 1 minute at $\geq 15,000 \times g$.

* After use, store at - 20° C.

4. Elution

4.1 Transfer the Column to a Collector Tube 1.5 mL (**R8**) and discard the Collector Tube with the filtrate.

4.2 Add 60~100µL of DNase Free Water (**R4**) preheated to 70°C. Dispense directly in the center of the membrane.

4.3 Incubate at room temperature for 1 minute.

4.4 Centrifuge for 1 minute at $\geq 15,000 \times g$, and discard the Column.

4.5 Storing the DNA eluted at -20°C if not used immediately. For long time storage, it is recommended to stock DNA at -70°C

PROCESS LIMITATIONS

Cross contamination that eventually occurs during the sample collection, processing, transportation and storage may give false results.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1.Vingataramin, L.; Frost, H. E. A single protocol for extraction of gDNA from bacteria and yeast. Vol 58. University of Sherbrooke, Canada, 2015.

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service

Phone: 0800 031 5454

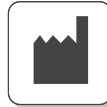
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for kit: 10269360297

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



CATALOG NUMBER



MANUFACTURED BY



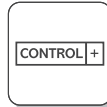
BATCH CODE



CONTROL



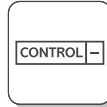
DATE OF MANUFACTURE



POSITIVE CONTROL



USED BY
(last day of month)



NEGATIVE CONTROL



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



BIOLOGICAL RISK



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



INFLAMMABLE



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



CORROSIVE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



POISON



CAUTION



DANGER

BIO GENE

Bioclin ·· QUIBASA

 Rua Teles de Menezes, 92 . Belo Horizonte . MG . Brasil . CEP: 31565-130
Tel +55 31 3439 5454 . Fax +55 31 3439 5455 . www.bioclin.com.br
FARM. RESP. Silvio Wandalsen Arndt - CRF MG 7422
C.N.P.J.: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira