

Produto desenvolvido para a extração e purificação de DNA/RNA viral de amostras de soro, plasma ou outros fluidos biológicos.

ATENÇÃO: Antes de iniciar o teste, observar o item “CUIDADOS ESPECIAIS” na Instrução de Uso do produto.

PREPARO DAS SOLUÇÕES DE TRABALHO

Preparo das Soluções de Trabalho

Ressuspender os reagentes Lavagem 2 (**R3**) e Carrier RNA (**R5**) de acordo com a tabela abaixo:

REAGENTE	VOLUME DE RESSUSPENSÃO
R3 - Lavagem 2	Adicionar 48 mL de Etanol 96-100%
R5 - Carrier RNA*	Adicionar 300µL de Água livre de RNase (R4)

*Após a ressuspensão, o reagente Carrier RNA (**R5**) deve ser armazenado a -20°C.

EXTRAÇÃO DE DNA/RNA

ATENÇÃO: Antes de iniciar o procedimento observe:

- Volume de amostra a ser extraído, conforme Protocolo A ou B.
- Configurar o bloco de aquecimento ou banho maria a 56°C.
- Preaquecer o reagente Água livre de RNase (**R4**) a 70°C.

A. Protocolo para 200µL / B. Protocolo para 400µL

A. Lise das amostras para 200µL de volume

- Pipetar 200µL de amostra em Tubo Coletor de 1,5 mL (**R9**).
- Adicionar 5µL Proteinase K (**R6**)** e homogeneizar.
- Adicionar 200µL de Tampão de Lise (**R1**) e homogeneizar.
- Adicionar 5,6µL de Carrier RNA (**R5**) e homogeneizar.
- Incubar por 3 min a temperatura ambiente.
- Adicionar 200µL de Etanol (96-100%) e homogeneizar.
- Incubar por 5 min a temperatura ambiente.
- Continuar no passo C. Ligação.

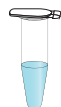


200 µL Amostra

- +5 µL **R6**
- +200 µL **R1**
- +5,6 µL **R5**
- ⌚ 3 min. TA
- +200 µL Etanol
- ⌚ 5 min. TA

B. Lise das amostras para 400µL de volume

- Pipetar 400µL de amostra em Tubo Coletor de 1,5 mL (**R9**).
- Adicionar 10µL Proteinase K (**R6**)** e homogeneizar.
- Adicionar 400µL de Tampão de Lise (**R1**) e homogeneizar.
- Adicionar 11,2µL de Carrier RNA (**R5**) e homogeneizar.
- Incubar por 3 min a temperatura ambiente (18-25°C).
- Adicionar 400µL de Etanol (96-100%) e homogeneizar.
- Incubar por 5 min a temperatura ambiente.
- Continuar no passo C. Ligação.



400 µL Amostra

- +10 µL **R6**
- +400 µL **R1**
- +11,2 µL **R5**
- ⌚ 3 min. TA
- +400 µL Etanol
- ⌚ 5 min. TA

Após o uso, o reagente Proteinase K (R6**) deve ser armazenado a -20°C.

C. Ligação

- Identificar a Coluna **(R7)** dentro do Tubo Coletor de acordo com a amostra que está sendo purificada.
- Transferir o volume total da amostra para a Coluna.
- Centrifugar por 3 minutos a 4.000 x g.
- Transferir a Coluna para novo Tubo Coletor **(R8)**.
- Descartar o tubo com o filtrado.



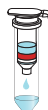
3 min, 4.000 x g

**D. Lavagem**

- Adicionar 400µL do reagente Lavagem 1 **(R2)**.
- Centrifugar por 1 min a 11.000 x g.
- Transferir a Coluna para novo Tubo Coletor **(R8)**.
- Descartar o Tubo Coletor com o filtrado.
- Adicionar 400µL do reagente de Lavagem 2 **(R3)**.
- Centrifugar por 1 min a 11.000 x g.
- Transferir a Coluna para novo Tubo Coletor **(R8)**.
- Descartar o Tubo Coletor com o filtrado.
- Adicionar 200µL do reagente de Lavagem 2 **(R3)**.
- Centrifugar por 5 min a $\geq 15.000 \times g$.

+400 µL **R2**
1 min, 11.000 x g+400 µL **R3**
1 min, 11.000 x g+200 µL **R3**
5 min, $\geq 15.000 \times g$ **E. Eluição**

- Transferir a Coluna para um Tubo Coletor de 1,5 mL **(R9)**.
- Descartar o Tubo Coletor com o filtrado.
- Incubar a Coluna/Tubo por 5 min a 56°C com a tampa aberta.
- Adicionar 30–60µL de Água livre de RNase **(R4)** a 70°C.
- Incubar a temperatura ambiente por 3 min.
- Centrifugar por 3 min a $\geq 15.000 \times g$ e descartar a Coluna.
- Armazenar o DNA/RNA eluído a -20°C, caso não seja utilizado imediatamente. Para longos períodos de armazenamento é recomendado estocar a -70°C.

① 5 min, 56°C
+30–60µL **R4** a 70°C
② 3 min, TA
3 min, $\geq 15.000 \times g$ 