

MAGNETIC SOIL AND STOOL GENOMIC DNA KIT

Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar

Cat. No. XP-800

Armazenamento:

- Solução Agente removedor de ácido húmico: 2-8°C
- demais reagentes/tubos/beads: temperatura ambiente

Descrição:

O Magnetic Soil and Stool Genomic DNA Kit é um produto desenvolvido para a purificação de DNA genômico a partir de matrizes diversas de solo e fezes. O sistema emprega uma solução de lise exclusiva, otimizada para a clivagem celular em amostras sólidas ou líquidas com alta concentração de impurezas e contaminantes.

O fluxo de trabalho integra uma etapa eficiente de remoção de ácidos húmicos combinada à adsorção específica do DNA por esferas magnéticas (magnetic beads). O DNA extraído apresenta alta qualidade, sendo plenamente compatível com aplicações de biologia molecular a jusante (downstream), tais como PCR, qPCR e sequenciamento de nova geração (NGS). Adicionalmente, o kit é compatível com plataformas automatizadas de extração de ácidos nucleicos por haste magnética de alto rendimento (high-throughput).

Características Operacionais

- Protocolo Otimizado: O design simplificado dispensa etapas laboriosas e críticas, como incubação térmica (aquecimento) ou choque térmico em banho de gelo.
- Alta Eficiência de Purificação: Remoção rigorosa de inibidores enzimáticos da matriz, garantindo a obtenção de DNA com elevados índices de pureza.
- Versatilidade de Matriz: Validado para uma ampla gama de subtipos de amostras de solo e fezes.

Recomendação: Utilizar amostras de solo ou fezes frescas ou congeladas. Recomenda-se evitar ciclos consecutivos de congelamento e descongelamento para preservar a integridade do material genético.

Componentes do kit

Componente	Volume
Buffer de Lise (LB)	40 ml
Buffer de Aprimoramento (AB)	2.5 ml
Reagente de Dissolução (DR)	400 gl
Buffer de Precipitação (PB)	12 ml
Agente removedor de ácido humico	10 ml
Buffer de Ligação (LB)	30 ml
Buffer de Limpeza	40 ml
Buffer de lavagem (WB)	20 ml
Buffer de Eluição (EB)	10 ml
Tubo de Lise	50 unid.
Beads Magnéticas	900

Obs: Antes de iniciar o protocolo, realizar as seguintes etapas:

- Adicionar etanol absoluto (100%) aos frascos do Buffer de Lise e do Buffer de Lavagem seguindo estritamente as volumetrias especificadas na tabela abaixo.

Componente	Volume
Buffer de Limpeza	10 ml 100% etanol
Buffer de Lavagem	80 ml 100% etanol

Protocolo:

1. Transferir de 0,25 a 0,5 g de amostra de solo ou 0,1 g de matriz fecal para um Tubo de Lise. Adicionar consecutivamente 700µL do Buffer de Lise, 40 µL do Buffer de Aprimoramento LE56 e 4 µL do Reagente de Dissolução. Assegurar a vedação hermética do tubo e proceder à maceração mecânica da amostra.
2. Centrifugar o homogenato a 12.000xg por 3 minutos. Transferir cuidadosamente 600µL do sobrenadante para um novo microtubo estéril de 1,5 mL.
3. Adicionar 200µL do Buffer de Precipitação e 150 µL do Agente de Remoção de Ácido Húmico. Homogeneizar por agitação em vórtice e centrifugando a 12.000xg por 3 minutos.
4. Transferir de 500 a 600 µL do sobrenadante clarificado para um novo microtubo estéril de 1,5 mL. Adicionar 500 µL do Tampão de Ligação e homogeneizar por inversão.

Obs: Evitar rigorosamente a aspiração de precipitados ou flóculos brancos sedimentados no fundo do tubo durante a transferência.

5. Adicionar 15µL de esferas magnéticas (previamente homogeneizadas em vórtice até a completa ressuspensão). Agitar em vórtice por 5 minutos e posicionar o microtubo em uma estante magnética até que a solução se apresente completamente límpida.

Obs: Com o tubo fixo na estante magnética, realizar movimentos suaves de inversão e rotação lateral para otimizar a aglomeração focalizada das esferas na parede do tubo.

6. Descartar o sobrenadante por aspiração com o cuidado de não dissolver o pellet de esferas magnéticas. Adicionar 800 µL do Buffer de Limpeza, agitar em vórtice por 2 minutos e reconduzir o tubo à estante magnética até a clarificação total da solução.

7. Descartar o sobrenadante, adicionar 700 µL do Buffer de Lavagem, agitar em vórtice por 1 minuto e posicionar na estante magnética até a clarificação.

8. Repetir integralmente o procedimento de lavagem descrito no passo anterior (Etapa 7).

9. Aspirar o máximo possível do sobrenadante residual. Submeter o pellet de esferas à secagem ambiente (temperatura ambiente) por 5 a 10 minutos para garantir a completa evaporação do etanol residual, evitando a inibição de reações enzimáticas posteriores.

10. Adicionar de 50 a 100 µL do Tampão de Eluição. Homogeneizar por ressuspensão/pipetagem e incubar em bloco térmico ou banho-maria a 65 °C por 5 minutos (recomenda-se realizar 2 a 3 homogeneizações por pipetagem ao longo da incubação).

11. Posicionar o tubo na estante magnética para a separação das esferas. Transferir o sobrenadante purificado (contendo o DNA genômico) para um novo microtubo estéril e armazenar a -20 °C.

Notas Técnicas e Critérios de Controle de Qualidade:

- Preservação da Integridade do Alvo: Para mitigar a fragmentação do DNA genômico e garantir o rendimento analítico, evite submeter as amostras a ciclos sucessivos de congelamento e descongelamento (*freeze-thaw*).

- Padronização Amostral: Recomenda-se a homogeneização prévia e completa das matrizes antes das etapas de pesagem e partição analítica.

- Homogeneização de Fases: Assegurar a completa ressuspensão e homogeneização cinética das esferas magnéticas imediatamente antes de sua alíquota.

- Prevenção de Contaminações Exógenas: Utilizar exclusivamente ponteiras com barreira (filtro) e microtubos estéreis livres de nucleases (*Nuclease-free*), minimizando o risco de degradação biológica por DNases.

Contatos:

- **Website:** www.genexplore.com.br
- **E-mail:** suporte@genexplore.com.br
- **Importado por:** Genexplore, Comércio, Importação e Exportação Ltda

CNPJ: 62.359.822/0001-10 / I.E: 155.425.101.110

Av: Primeiro de Maio 379 – sala 04 – Ribeirão Preto – SP – 14030-390