

BLOOD PURIFICATION DNA KIT

Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar

Cat. No. XP-348

Armazenamento: ambiente

Descrição:

O BLOOD PURIFICATION DNA KIT proporciona um método simples e eficiente para o isolamento de DNA genômico de elevada pureza a partir de 5 a 250 µl de amostras de sangue total, fresco ou congelado. O processo baseia-se na incubação do sangue total com um tampão de lise e ligação, promovendo a liberação do DNA e a sua subsequente adsorção seletiva a uma matriz de sílica em coluna de centrifugação. O DNA purificado apresenta elevada integridade, sendo adequado para aplicações a jusante (*downstream*), tais como PCR, digestão por enzimas de restrição e *Southern blot*.

- Procedimento otimizado e célere: dispensa o uso prévio de tampão de lise de eritrócitos.
- Elevada pureza: remoção eficaz de contaminantes e inibidores enzimáticos.
- Rendimento superior: obtenção de até 40 µg de DNA genômico.
- Purificação por matriz de sílica: isenta de extração orgânica (fenol-clorofórmio) ou precipitação com etanol.
- Ampla compatibilidade: aplicável a sangue fresco ou congelado anticoagulado com EDTA, citrato de sódio ou heparina, em volumes de 5 a 250 µl.

Material de Partida Para amostras com eritrócitos anucleados (ex.: mamíferos), recomenda-se um volume de sangue de 5 a 250 µl. Para amostras com eritrócitos nucleados (ex.: aves, anfíbios, etc.), recomenda-se um volume de 5 a 20 µl.

Conteúdo do kit:

Componente	Volume
Tampão de Ligação	30ml
Tampão de Limpeza	6ml
Tampão de Lavagem	12ml
Tampão de Eluição	25ml
RNase A (20 mg/ml)	500U
Proteinase K (20 mg/ml)	1ml
Tubos e Colunas	50 unid.

Antes do início do procedimento, adicionar Etanol Absoluto aos Tampões

abaixo com os respectivos volumes

Tampão	Volume
Tampão de Limpeza	24ml
Tampão de Lavagem	48ml

Todas as etapas de centrifugação devem ser realizadas à temperatura ambiente.

1. Lise e Digestão Enzimática: Transfira o volume adequado de sangue, 20 µl de Proteínase K e 500 µl do Tampão Ligação para um tubo de microcentrífuga. Homogeneíze por agitação em vortex durante 15 segundos e incube à temperatura ambiente por 10 minutos.

Opcional: Caso seja necessário obter DNA genômico isento de RNA, adicione 20 µl de RNase A antes da incubação.

2. Adsorção da Amostra: Submeta o tubo a uma breve centrifugação (*spin*) e transfira a totalidade do lisado para a coluna de centrifugação. Centrifugue a $12.000 \times g$ durante 1 minuto e descarte o efluente.
3. Primeira Lavagem: Adicione 500 µl do Tampão Limpeza (certifique-se previamente da adição de etanol), centrifugue a $12.000 \times g$ durante 30 segundos e descarte o efluente.
4. Segunda Lavagem: Adicione 500 µl do Tampão Lavagem (certifique-se previamente da adição de etanol) e centrifugue a $12.000 \times g$ durante 30 segundos. Descarte o efluente e repita este passo mais uma vez.
5. Secagem da Matriz: Transfira a coluna para um novo tubo. Centrifugue a coluna vazia a $12.000 \times g$ durante 2 minutos para a remoção total de resíduos de etanol do Tampão de Lavagem. Deixe a coluna secar ao ar à temperatura ambiente durante alguns minutos.
6. Eluição do DNA: Coloque a coluna num tubo de microcentrífuga estéril de 1,5 ml. Adicione de 50 a 200 µl de Tampão de Eluição (pré-aquecido a 60 °C para otimizar o rendimento) ou água destilada (pH > 7,0) diretamente no centro da matriz de sílica. Incube à temperatura ambiente durante 1 minuto. Centrifugue a $12.000 \times g$ por 1 minuto para eluir o DNA genômico.

Nota de otimização: Para maximizar a recuperação de DNA, repita o processo de eluição com uma segunda alíquota. Para armazenamento a longo prazo, conserve o DNA purificado a -20 °C.

Considerações Técnicas e Recomendações

- Capacidade da coluna: Evite exceder a capacidade máxima da matriz de sílica, pois o excesso de amostra compromete a eficiência de ligação e reduz substancialmente o rendimento final.
- Integridade da amostra: Utilize amostras frescas e evite ciclos repetidos de congelação e descongelação para prevenir a degradação do ácido nucleico.
- Controle de contaminações: Utilize pontas com filtro e tubos estéreis e livres de nucleases para evitar a contaminação por DNases exógenas.

Apenas para uso em pesquisa, não para diagnóstico clínico.

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
- Rev 0.1 (julho/2026)