

VIRAL DNA/RNA KIT

Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar

Cat. No. XP-202

Armazenamento: ambiente

Descrição:

O VIRAL DNA/RNA KIT emprega um Tampão de Lise exclusivo projetado para a ruptura da partícula viral e subsequente liberação do material genético (DNA/RNA). Os ácidos nucleicos liberados fundem-se por adsorção seletiva à matriz de sílica de uma coluna de centrifugação (*spin column*), permitindo uma purificação de alta eficiência.

Este sistema é otimizado para o isolamento de DNA/RNA viral a partir de volumes de até 200 µL de matrizes biológicas diversificadas, incluindo:

- Fluidos Biológicos Acoplados e Circulantes: Plasma, soro, sangue total e líquidos corporais acelulares.
- Amostras Respiratórias e Aspirados: Lavado broncoalveolar (LBA), aspirado traqueal, escarro, e aspirados/lavados nasofaríngeos ou orofaríngeos.
- Outras Matrizes: Homogenatos de tecidos, swabs nasofaríngeos/orofaríngeos e sobrenadantes de cultura celular animal.

O DNA/RNA isolado apresenta elevada pureza e integridade, garantindo alta reprodutibilidade em aplicações moleculares subsequentes, tais como PCR, RT-PCR, qPCR e qRT-PCR.

Conteúdo do kit:

Componente	Volumes
Tampão de Ligação	15ml
Tampão de Lavagem	12ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1ml
Água RNase-free	10ml
Tubos RNase-free	50 unid.
Colunas e tubos de coleta	50 unid.

Requisitos da Amostra

- Condições de Conservação: Armazenar sob refrigeração entre 2 °C e 8 °C por um período não superior a 72 horas. Para estocagem prolongada, manter congelado a -80 °C (ou subzero profundo).
- Estabilidade: Evitar ciclos repetidos de congelamento e descongelamento para prevenir a degradação dos ácidos nucleicos.
- Coleta: Recomenda-se o uso exclusivo de *swabs* com haste de alumínio ou plástico e ponta sintética (ex.: poliéster ou dacron). Evitar pontas de algodão ou hastes de madeira, pois contêm inibidores potenciais da PCR.

Procedimento:

- Preparo de Reagentes: Antes de iniciar a extração, adicionar os volumes indicados de etanol anidro ao Tampão de Lavagem para atingir a concentração de trabalho correta.

Tampão	Volume
Tampão de Lavagem	48ml

1. Processamento de Amostras

• Amostras Líquidas

a) Preparo dos Reagentes:

Adicionar 20 µL de Proteinase K a um tubo de microcentrífuga estéril de 1,5 mL. Em seguida, adicionar 200 µL de Tampão de Ligação e homogeneizar em agitador vórtex por 15 segundos.

- **Nota:** Para o processamento em lote, é possível preparar uma solução de trabalho combinando Proteinase K e Tampão de Ligação na mesma proporção (1:10 v/v), distribuindo alíquotas de 220 µL por tubo.

b) Adição da Amostra: Adicionar 200 µL da amostra biológica ao tubo de microcentrífuga contendo a mistura inicial e homogeneizar em vórtex por 15 segundos.

- **Nota de Ajuste:** Caso o volume inicial da amostra seja inferior a 200 µL, reajustar o volume final para 200 µL utilizando solução tampão fosfato-salino (PBS) ou solução fisiológica (NaCl 0,9%).

c) Lise Enzimática: Incubar a mistura em termobloco ou banho-maria a 56 °C por 15 minutos para promover a digestão proteica e a lise viral.

d) Precipitação e Condição de Ligação: Adicionar 250 µL de etanol anidro à mistura (a formação visível de precipitados ou floculação nesta etapa é esperada) e homogeneizar em vórtex por 15 segundos. Incubar à temperatura ambiente por 5 minutos.

- **Amostras Sólidas (ex.: Swabs)**

a) Preparo do Espécime:

Transferir a haste do *swab* juntamente com todo o volume do meio de transporte/armazenamento para um tubo de microcentrifuga estéril de 1,5 mL. Seccionar a haste, mantendo apenas a ponta absorvente no tubo.

b) Digeção Enzimática: Adicionar 300 µL de Tampão de Ligação e 20 µL de Proteinase K. Homogeneizar vigorosamente em vórtex.

c) Incubação: Incubar a amostra a 56 °C por 20 minutos, realizando agitação em vórtex por 3 a 5 vezes ao longo do período de incubação para otimizar o desprendimento do material biológico.

d) Remoção da Matriz e Precipitação: Remover a ponta do *swab* com o auxílio de uma pinça estéril, submeter o tubo a uma centrifugação rápida (*spin-down*) para recolher o condensado e adicionar 300 µL de etanol anidro (pode ocorrer formação de precipitado). Homogeneizar em vórtex por 15 segundos e incubar à temperatura ambiente por 5 minutos.

- Para fluidos biológicos altamente viscosos (ex.: escarro), consultar as diretrizes da seção "Amostras Sólidas".

2. Transferir todo o conteúdo para a coluna de centrifugação, centrifugar a 12.000 × g por 1 minuto e descartar o filtrado (*flow-through*). *Nota:* Caso o volume total exceda 650 µL, realizar a aplicação fracionada em duas etapas.

3. Adicionar 500 µL de Tampão de Lavagem. Centrifugar a 12.000 × g por 1 minuto e descartar o efluente.

4. Repetir o passo 3 por mais uma vez.

5. Submeter a coluna a uma nova centrifugação a 12.000 × g por 1 minuto para assegurar a remoção completa de resíduos de etanol.

6. Transferir a *spin column* para um novo tubo de microcentrifuga estéril de 1,5 mL, livre de DNases e RNases. Adicionar de 20 a 50 µL de água isenta de RNases diretamente ao centro da matriz da coluna e incubar à temperatura ambiente por 1 minuto.

7. Centrifugar a 12.000 × g por 1 minuto para efetuar a eluição dos ácidos nucleicos (DNA/RNA).

8. Armazenar o DNA purificado a -20 °C ou o RNA purificado a -70 °C (ou -80 °C) para estocagem prolongada.

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)