

STOOL GENOMIC DNA KIT

Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar

Cat. No. XP-350

Armazenamento: ambiente

Descrição:

O STOOL GENOMIC DNA KIT emprega um sistema de lise otimizado com tampão específico para a purificação de DNA genômico a partir de amostras de fezes sólidas ou líquidas com elevadas concentrações de impurezas e inibidores PCR. O método baseia-se na digestão tecidual/celular seguida pelo isolamento do material genético via colunas de rotação com matriz de sílica de alta capacidade de adsorção. O DNA genômico purificado apresenta elevada integridade e pureza, sendo compatível com diversas aplicações em biologia molecular, tais como PCR, qPCR e sequenciamento de nova geração (NGS).

Características

- **Eficiência e Integridade:** Protocolo rápido com alta taxa de recuperação e preservação da integridade do DNA.
- **Alta Pureza:** Formulação do tampão de lise e especificidade da matriz de sílica otimizadas para a remoção eficaz de inibidores cromatográficos e enzimáticos característicos do tecido fecal.

Material de Partida Amostras fécais (sólidas ou líquidas), frescas ou congeladas. *Recomenda-se evitar ciclos repetidos de congelamento e descongelamento para prevenir a fragmentação do material genético.*

Conteúdo do kit:

Componente	Volumes
Tampão de Lise	60ml
Tampão de Precipitação	15ml
Tampão de Ligação	35ml
Tampão de Limpeza	6ml
Tampão de Lavagem	12ml
Tampão de Eluição	10ml
Beads de vidro	12,5g
Colunas e Tubos	50 unid.
Tubos Nuclease-free	100 unid.
Tubos de Coleta	150 unid.

Procedimentos:

Antes de iniciar o protocolo, adicionar Etanol Absoluto conforme tabela abaixo

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

Todas as etapas de centrifugação devem ser conduzidas à temperatura ambiente (~20–25 °C).

Antes de iniciar o protocolo, pré-aqueça um banho-maria (ou bloco térmico) a 70 °C.

1. Adicione 180–220 mg da amostra fecal, 0,25 g de Beads de vidro e 1 mL do Tampão de Lise em um tubo microcentrífuga.
2. Agite vigorosamente em *vortex* até a completa homogeneização e ruptura do tecido fecal.
3. Incube a 70 °C por 10 minutos.
 - Opcional (Digestão de RNA): Caso seja necessário obter DNA genômico isento de contaminação por RNA, adicione 20 µL de RNase A (não fornecida no kit) e incube à temperatura ambiente por 3 minutos antes de proceder à incubação a 70 °C.
4. Centrifugue o tubo a 15.000 × g por 5 minutos. Transfira cuidadosamente o sobrenadante para um novo microtubo de 1,5 mL, evitando o arraste do precipitado.
5. Adicione 250 µL do Tampão de Precipitação e homogeneize via agitação em *vortex*. Em seguida, incube a mistura em banho de gelo (0–4 °C) por 5 minutos para promover a precipitação de proteínas e inibidores enzimáticos.
6. Centrifugue o tubo a 15.000 × g por 2 minutos. Transfira um volume de sobrenadante não superior a 600 µL para um novo microtubo de 2,0 mL.
 - *Nota:* A presença de vestígios insignificantes de precipitado no sobrenadante não interfere no rendimento das etapas subsequentes.
7. Adicione ao sobrenadante obtido na etapa anterior volumes equivalentes do Tampão de Ligação e etanol absoluto (100%) em proporção 1:1:1 (por exemplo: para 600 µL de sobrenadante, adicione 600 µL do Tampão de Ligação e 600 µL de etanol absoluto). Homogeneize a solução por agitação em *vortex*.
 - *Observação:* O aparecimento de um precipitado floculento esbranquiçado nesta fase é esperado.
8. Carregue 650 µL da mistura resultante na coluna de rotação (Colunas e Tubos) e centrifugue a 12.000 × g por 30 segundos. Descarte o tubo de coleta contendo o efluente e acople a coluna a um novo tubo de coleta.
9. Repita o procedimento de centrifugação sucessivamente com alíquotas de 650 µL até que todo o volume do lisado tenha passado pela matriz de sílica.
10. Adicione 500 µL do tampão Tampão de Limpeza (certifique-se previamente de que o etanol foi adicionado ao frasco de tampão concentrado). Centrifugue a 12.000 × g por 30 segundos e descarte o efluente (*flow-through*).

11. Adicione 500 µL do Tampão de Lavagem (certifique-se de que o etanol foi devidamente adicionado ao frasco). Centrifugue a 12.000 × g por 30 segundos e descarte o efluente.
12. Repita a etapa de lavagem anterior (Etapa 5) mais uma vez sob as mesmas condições operacionais.
13. Centrifugue a coluna a 15.000 × g por 2 minutos para promover a evaporação e eliminação completa de resíduos do Tampão de Lavagem (etanol residual).
14. Transfira a coluna de rotação para um novo microtubo estéril de 1,5 mL. Aplique de 50 a 200 µL do Tampão de Eluição ou água deionizada estéril (com pH > 7,0) diretamente no centro da matriz de sílica. Incube à temperatura ambiente por 1 minuto e, em seguida, centrifugue a 12.000 × g por 1 minuto para eluir o DNA genômico.

Notas Técnicas e Recomendações

- **Amostras Preservadas em Etanol:** Para amostras de fezes estocadas em etanol absoluto, recomenda-se uma centrifugação prévia para descarte do fixador, seguida de 2 a 3 lavagens do sedimento com água purificada estéril antes de iniciar o protocolo de lise.
- **Prevenção de Degradação:** Utilize exclusivamente ponteiros com filtro e microtubos estéreis e livres de nucleases para evitar a contaminação por DNases exógenas.
- **Otimização do Rendimento:** Para maximizar a recuperação e a eficiência de eluição do DNA genômico de alto peso molecular, recomenda-se pré-aquecer o tampão de eluição (ou água deionizada) a 65 °C antes da aplicação na coluna.

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)