

ECRA MAG+

Kit para extração de ácidos nucleicos (DNA/RNA)

Quantidade 250 extrações; Código do produto: EB3-20



Validade 12 meses após a abertura ou o máximo de acordo com o COA.

Temperatura de transporte: ambiente.

Temperatura de armazenamento: ambiente.

Descrição do produto

O kit para extração de ácidos nucleicos **ECRA MAG+** contém os componentes necessários para a extração de ácidos nucleicos de diversas origens como: vírus; bactérias; leveduras; células humanas; e células vegetais. Esse kit tem como diferencial a utilização de nanopartículas de ferro (*beads*) magnetizadas para mediar a extração dos ácidos nucleicos. As *beads* são revestidas por uma camada de sílica para aumentar a durabilidade do material e a estabilidade de interação com as fitas de DNA/RNA [1]. Além disso, o kit contém tampão de lise celular, bem como álcoois paraprecipitação dos ácidos nucleicos e água para a eluição do material final. Toda a operação pode ser feita em temperatura ambiente.

Diretrizes para o uso da ECRA MAG+

Tabela 1. Reagentes fornecidos

Componente	Volume (mL)	Cor
Tampão de lise	25,0	Roxo
Beads magnéticas	10,0	Vermelho
Solução de ligação	125	Amarelo
Solução de lavagem	100	Verde
H ₂ O	12,5	Azul

Diretrizes para extração de ácidos nucleicos

1. Adicionar e homogeneizar, na seguinte ordem, os componentes em um tubo de 1,5 mL de microcentrífuga, ou em uma microplaca livre de nucleases:

- 200 µL de solução contendo amostra desejada;
- 100 µL de tampão de lise;

OBS: Homogeneize a solução e aguarde por 1 min e então continue a adição dos outros componentes.

- 40 µL de solução de uso de *beads*;
 - 340 µL de solução de ligação.
2. Homogeneizar 10x todo o conteúdo por

inversão e aguardar 1 minuto.

3. Posicionar o microtubo ou a placa em um rack magnético (produto não fornecido) por 10 min.
4. Com o microtubo ou a placa ainda na rack magnética, com o auxílio de uma micropipeta, descarte o sobrenadante, evitando as *beads*, retirando pelo lado oposto onde estão as *beads*.
5. Com o microtubo ou a placa ainda no rack magnético, adicionar 150 µL de solução de ligação sobre as *beads* e aguardar 30 s.
6. Com o microtubo ou a placa ainda no rack magnético, com o auxílio de uma micropipeta, descarte o sobrenadante, evitando as *beads*, retirando pelo lado oposto onde estão as *beads*.
7. Com o microtubo ou a placa ainda no rack magnético, adicionar 200 µL de solução de lavagem homogeneíze com uma pipeta, de maneira cuidadosa e aguardar 30 s.
8. Com o microtubo ou a placa ainda no rack magnético, com o auxílio de uma micropipeta, descarte o sobrenadante, evitando as *beads*, retirando pelo lado oposto onde estão as *beads*.
9. Repetir a lavagem dos passos 7 e 8.

OBS: Na última lavagem (2ª lavagem), no final, retire o máximo da solução de lavagem e de maneira cuidadosa, evitando o contato com as *beads*, as quais estarão acopladas na parede do microtubo ou placa.

10. Com o microtubo ou a placa ainda no rack magnético, aguardar por 5 min a evaporação dos líquidos residuais.

OBS: Não esperar muito tempo após a secagem, pois as *beads* aderem entre si, perdendo rendimento na etapa posterior

11. Remover o microtubo ou a placa do rack magnético e adicionar 55 µL de H₂O. Homogeneizar com as *beads* e aguardar por pelo menos 15 min.
12. Posicionar o microtubo, ou a placa, no rack magnético por 5 minutos, ou até a separação completa das *beads*.
13. Transferir 50 µL do sobrenadante para um novo microtubo, ou para uma nova placa.

Utilize o conteúdo imediatamente ou armazene em temperatura adequada para manter a estabilidade do ácido nucleico.

Resolução de problemas

Em caso de baixo rendimento da extração, pode ser realizado os seguintes procedimentos:

- a. Realizar uma etapa de lise celular específica à célula de origem;
- b. Aumentar a concentração celular inicial;
- c. Aumentar o tempo de eluição (etapa 11) para até 30 min;
- d. Proteinase K, DTT e/ou β -mercaptoetanol podem ser adicionados à amostra para aumentar o rendimento da extração;
- e. Caso durante a extração notar a formação de uma espécie de nuvem ou visco nas beads, há a necessidade de diminuir a quantidade de amostra utilizado, a fim de aumentar o rendimento da extração.

Precauções

Tiocianato de guanidínio (CASNr 593-84-0) é nocivo por ingestão. O contato com os olhos e a pele pode causar irritações. Em caso de acidentes, lavar cuidadosamente após o manuseio. Não comer ou beber durante a utilização deste produto. Em caso de ingestão, enxágue a boca e contate um médico.

O descarte do produto deverá ser realizado de acordo com a legislação local.

Especificações

Tampão de lise: Tiocianato de guanidina; Tris-HCl; N-Laurilsarcosina de sódio; EDTA.

H₂O: a água fornecida pela *ECRA Biotec* é tratada para uso adequado em biologia molecular.

Armazenamento e uso

Armazene todos os componentes em temperatura ambiente. Caso haja precipitado no tampão de lise, homogeneíze até a completa solubilização dos componentes. Caso necessário, aqueça a 40 °C por 5 minutos e deixe esfriar lentamente; isso pode ajudar no processo.

Controle de qualidade

Este produto passou pelos seguintes ensaios de controle de qualidade: validação da extração em diferentes células, verificado em eletroforese de ácidos nucleicos.

Referências

Sun N, Deng C, Liu Y, Zhao X, Tang Y, Liu R, Xia Q, Yan W, Ge G. Optimization of influencing factors of nucleic acid adsorption onto silica-coated magnetic particles: application to viral nucleic acid extraction from serum. *J Chromatogr A*, 2014, 1325: 31–39.

Garantia

A *ECRA Biotec* garante que seus produtos atendem às especificações indicadas na seção de dados técnicos. Os produtos serão substituídos gratuitamente se não estiverem conforme as especificações. Essa substituição deve ser realizada no prazo de 60 dias após o seu recebimento. Em consideração aos compromissos acima referidos pela *ECRA Biotec*, o comprador concorda e aceita as seguintes condições:

- Esta garantia substitui todas as outras, sejam expressas ou implícitas;
- O único recurso do comprador será para obter a substituição do produto de forma gratuita.

Uso para a pesquisa

Estes produtos se destinam a fins de pesquisa por pessoas qualificadas.

Aviso aos usuários:

É de responsabilidade do usuário utilizar os produtos da *ECRA Biotec* para determinar por si próprio a adequação de qualquer material e/ou procedimento para uma finalidade específica e que adote as precauções de segurança que possam ser necessárias.

Kit **ECRA MAG+** é uma marca comercial da *ECRA Biotec*

Versão 7 (Jul/2023)