



VirusFAST

Kit de extracción de ARN/ADN de un solo paso

Hoja de datos del producto.

Para uso exclusivo en investigación.

Almacene a 4 °C.

REF BMPUR02





Contenido

1. Uso previsto	3
2. Descripción	3
3. Fundamento	3
4. Contenido	4
4.1 Reactivos y materiales suministrados:	4
4.2 Reactivos y materiales requeridos, pero no suministrados:	4
5. Almacenamiento de los reactivos	4
6. Notas importantes	4
7. Beneficios	4
8. Protocolo	5
9. Fecha de emisión	6
10. Referencias	6

Este kit es fabricado por:

Amunet S.A. de C.V.



1. Uso previsto

VirusFASR es un kit de un solo paso diseñado para la extracción de ácidos nucleicos virales (ARN/ADN) mediante el uso de perlas magnéticas a partir de diferentes tipos de muestras.

2. Descripción

Este kit permite la extracción de ARN o ADN viral a partir de diferentes tipos de muestras como: suero, plasma, saliva, hisopados de vías respiratorias superiores, esputo entre otros a través del empleo de un buffer de lisis celular que facilitará la unión de las perlas magnéticas recubiertas de sílice con el ácido nucleico deseado, luego se aglomeran dichas perlas con ayuda de un imán después las perlas magnéticas son diluidas en un buffer de elución o agua grado biología molecular para separar el ácido nucleico de estas, finalmente solo se recolecta el buffer de elución o agua grado biología molecular. De esta manera es posible eliminar componentes no deseados como sales, dNTPs, enzimas, primers/cebadores, residuos celulares y otras impurezas.

El ARN/ADN viral obtenido con este kit permite utilizarlo en una amplia variedad de aplicaciones, por ejemplo, como plantilla en PCR convencional o punto final, PCR rápida (LAMP y RPA), qPCR, secuenciación de próxima generación (NGS) entre otras. Debido a que las perlas magnéticas empleadas en este kit son libres de RNasa pueden ser utilizadas tanto para ARN o ADN sin elevar los costos de procesamiento.

3. Fundamento

El kit de extracción de ARN/ADN viral 'VirusFAST' aprovecha una propiedad química de los ácidos nucleicos que es su carga, ya que estos se poseen una carga negativa debido a los grupos fosfato presentes en su estructura, por lo que se puede capturar dicho material utilizando moléculas cargadas positivamente (1). Las perlas magnéticas consisten en un centro de hierro recubierto por resina que confiere una carga positiva en su superficie, éstas se encuentran suspendidas en un buffer con cierto pH para mantener las cargas tanto de la cubierta de las perlas magnéticas como la de los ácidos nucleicos, con ayuda de un buffer de lisis celular, el cual, contiene agentes desnaturalizantes de proteínas y lípidos tendrá la función de lisar las células presentes en la muestra, de esta forma facilitará a las perlas magnéticas capturar los ácidos nucleicos, una vez realizado dicho proceso con ayuda de un imán o magneto se atraerán los núcleos de hierro permitiendo la separación de las perlas del resto de componentes de la muestra (proteínas, lípidos entre otros) para luego eliminar dichos componentes por pipeteo. Finalmente, se eluyen las perlas magnéticas en una solución acuosa con pH básico con el fin de neutralizar el pH de las perlas liberando los ácidos nucleicos capturados (2).



4. Contenido

Este kit proporciona todos los reactivos básicos para el aislamiento de ARN/ADN de muestras de sangre, suero, plasma, saliva, hisopados de vías respiratorias superiores, esputo entre otros. Estos reactivos permiten aislar ADN/ARN viral de hasta 50 muestras en volúmenes de 200 µL por muestra.

4.1 Reactivos y materiales suministrados:

- Buffer de lisis (10 mL)
- Buffer de elución (5 mL)

4.2 Reactivos y materiales requeridos, pero no suministrados:

- Micropipetas
- Vortex
- Soporte magnético para aplicaciones moleculares o imán de alta potencia
- Microtubo(s) antiadherente de 1.5 ml
- Solución preservadora de muestras (PBS 1X, Solución Salina, VTM)
- NaOH

5. Almacenamiento de los reactivos

Almacene cada uno de los reactivos provistos por este kit a 4 °C.

6. Notas importantes

- Cada componente ha sido analizado para verificar su pureza y funcionalidad.
- Las perlas magnéticas en el buffer de lisis se encuentran sedimentadas en el fondo del envase, deben mezclarse por agitación o vortex perfectamente antes de su uso.
- Se puede sustituir el buffer de elución por agua pura destilada y estéril, agua libre de nucleasas o buffer TE si el experimento así lo requiere.

7. Beneficios

- **Rapidez:** Mayor ahorro de tiempo con una alta reproducibilidad.
- **Simple:** Fácil operación con protocolo corto y escalable.
- **Eficiencia:** Alta eficiencia de extracción al permitir la mayor cantidad de recuperación de ARN o ADN viral.
- **Seguridad:** Ningún producto químico de este kit es tóxico.
- **Versatilidad:** El ADN/ARN purificado es funcional para una gran variedad de aplicaciones como: PCR convencional, PCR rápida (LAMP y RPA), NGS, secuenciación con bisulfito, etc.



8. Protocolo

Siga las indicaciones como se describen a continuación.

1. Recolección y preparación según el tipo de muestra:

- a. Suero/plasma: Obténgalos a partir de 5 mL de sangre, centrifugue (5000 rpm por 10 minutos) para separarlos y transfiera cualquiera de los dos a un tubo nuevo (asegúrese que no queden restos de fibrina en el suero).
- b. Oral o nasofaríngea: Las muestras de vías respiratorias superiores deben ser recolectadas de acuerdo a las instrucciones de toma de hisopados. Después de la recolección, las muestras deben ser almacenadas en solución de preservación (PBS, solución salina normal, solución de preservación solución, VTM, etc.) para su uso posterior.
- c. Espudo: Recolecte la muestra de acuerdo a las técnicas de obtención de esputo, almacénelo en un contenedor estéril para su uso posterior.

NOTA 1: Las muestras se pueden almacenarse por un corto periodo de tiempo a 4 °C (5 días) o - 20 °C (dos semanas) y por un largo periodo (hasta 6 meses) a - 70 °C.

NOTA 2: Las muestras deben ser transportadas preferentemente a 4 °C con refrigerantes. No se recomienda aplicar ciclos de congelación y descongelación a las muestras ya que puede causar una degradación de ácidos nucleicos.

NOTA 3: Se recomienda usar PSB 1X o solución de conservación salina isotónica normal y VTM (inactivado) para las muestras de hisopado de vías respiratorias.

2. Procesamiento según la muestra:

Aviso: Antes de utilizar el buffer de lisis, proceda a agitarlo por medio de vortex para que la sustancia este homogeneizada, ya que las perlas magnéticas pueden depositarse en el fondo del contenedor.

- A. Suero/plasma: Tome 200 µL y agregue 450 µL buffer de lisis previamente mezclado para la extracción de ácidos nucleicos.
- B. Oral o nasofaríngea:
 - i. Para los hisopados en solución de preservación proceda a inactivarlo a 56 °C por 5 minutos, luego homogenice, tome 200 µL de la muestra y transfíralos en un tubo nuevo de 1.5 mL y agregue 450 µL de buffer de lisis.
 - ii. Para un hisopado seco, mezcle el hisopado con solución salina isotónica o PBS 1X (0.5 a 2 mL dependiendo de la viscosidad de la muestra) después inactívela a 56 °C por máximo 5 minutos tome 200 µL de la muestra y transfíralos en un tubo nuevo de 1.5 mL y agregue 450 µL de buffer de lisis.
- C. Muestra de esputo: Agregue 4 veces el volumen de solución de hidróxido de sodio al 4% (NaOH 4%) a la muestra de esputo (ejemplo: 200 µL de muestra + 800 µL de (NaOH 4%)), mezclar y deje incubar por 30 minutos o hasta que la muestra esté completamente licuada. Agregue 200 µL de muestra en un tubo de 1.5 mL nuevo y agregue 450 µL de buffer de lisis previamente mezclado.

3. Ensayo

4. Mezcle la muestra procesada por vortex o por pipeteo verificando que no queden grumos de perlas magnéticas en el fondo del tubo de 1.5 mL luego déjelo durante 5 minutos a temperatura ambiente (verifique durante este tiempo que las perlas no se sedimenten, si esto ocurre vuelva a mezclar por agitación o vortex).
5. Coloque el tubo con la mezcla sobre un separador magnético o un imán de alta potencia y espere al menos un minuto hasta que las perlas magnéticas se aglomeren en el fondo del tubo, para este momento la solución se debe de haber aclarado.
6. Con ayuda de una pipeta remueva completamente el sobrenadante evitando llevarse las perlas magnéticas.

NOTA: Elimine completamente los líquidos residuales del tubo, ya que estos pueden generar interferencias en los próximos experimentos.



7. Coloque el tubo en una gradilla (no magnetizada/sin imán) y agregue 200 µL de buffer de elución o alguna otra solución mencionada en este manual, mezcle perfectamente por pipeteo.
 8. Coloque el tubo en el separador magnético o imán y espere por lo menos un minuto para que la solución se aclare, luego recolecte perfectamente el líquido sin las perlas magnéticas y transfíralo a un tubo nuevo, rotule/identifique dicho tubo adecuadamente. El ARN/ADN viral está listo para usarse directamente.
- NOTA 1: Este kit se utiliza para extraer ARN/ADN viral obteniendo únicamente trazas de ácido nucleico, por lo que no es adecuado para la cuantificación por espectrofotómetro UV.










9. Fecha de emisión

Marzo 2023, Versión 01.

10. Referencias

- Sambrook J., E. F. Fritsch y T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, EE.UU.
- Dundass N., N. K. Leos, M. Mitui, P. Revell y B. B. Rogers. 2008. Comparison of automated nucleic acid extraction methods with manual extraction. Journal of Molecular Diagnostics 10: 311-316.

11. Simbología utilizada

Símbolo	Descripción
	Número de catálogo
	Lote
	Fabricante
	Fecha de caducidad
	No use si el empaque se encuentra dañado
	Consulta instrucciones de uso
	Temperatura límite 2°C~29°C.
	No reutilizar
	Mantenga en un lugar seco y fresco

Para más información ingresa a:

www.amunet.com.mx