



MagnetiDNA plus

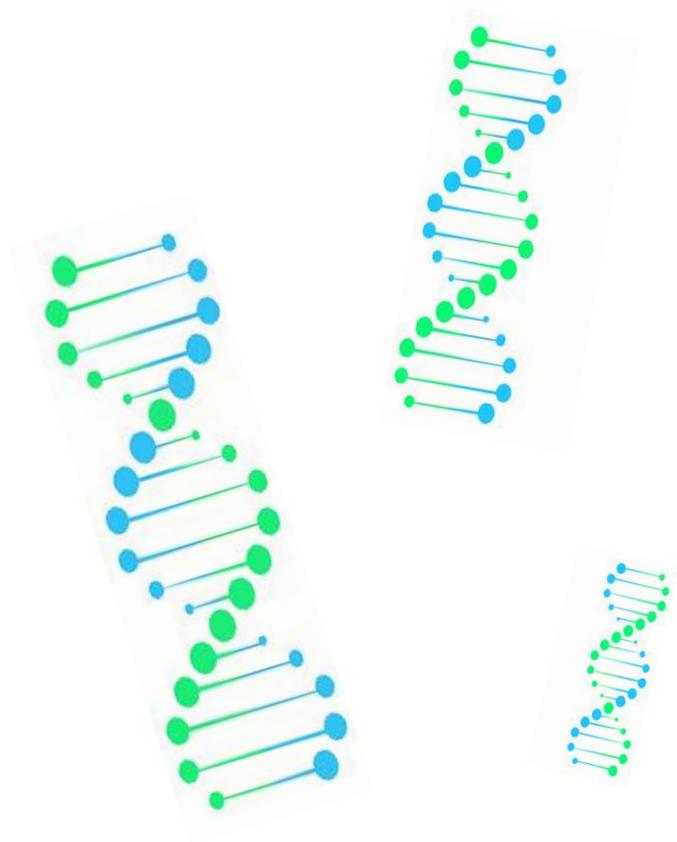
Kit de extracción de ADN/ARN genómico

Hoja de datos del producto.

Para uso exclusivo en investigación.

Almacene a temperatura ambiente.

REF BMPUR01





Contenido

1. Uso previsto	3
2. Descripción	3
3. Fundamento	3
4. Contenido	3
4.1 Reactivos y materiales suministrados:	3
4.2 Reactivos y materiales requeridos, pero no suministrados:	4
5. Consideraciones importantes	4
6. Beneficios	4
7. Procedimiento	4
8. Referencias	7

KMD 0723/01

Este kit es fabricado por:

Amunet S.A. de C.V.



1. Uso previsto

MagnetiDNA es un kit diseñado para la extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN) o de ácido ribonucleico (ARN) mediante el uso de perlas magnéticas a partir de diferentes tipos de muestras.

2. Descripción

Este kit permite la extracción de ADN o ARN a partir de diferentes tipos de muestras como: sangre, suero, plasma, saliva, hisopados de vías respiratorias superiores, esputo, cultivos bacterianos 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 para posteriormente realizar lavados con un buffer elaborado con etanol, 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 ADN/ARN 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 ADN o ARN sin elevar los costos de procesamiento.

3. Fundamento

El kit de extracción de ADN/ARN 'MagnetiDNA' aprovecha la carga, una propiedad química de los ácidos nucleicos, ya que estos poseen una carga negativa debido a los grupos fosfato presentes en su estructura, lo que permite 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 superficie de las perlas magnéticas como la de los ácidos nucleicos, con ayuda del buffer de lisis celular (contiene agentes desnaturizantes 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. Mientras las perlas son retenidas en la pared del microtubo por el imán/magneto se realizará un proceso de lavado con el buffer de lavado, el cual, tiene la función de eliminar todos los componentes no deseados posteriormente se elimina todo el buffer de lavado para finalmente eluir 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 ADN/ARN en muestras de sangre, suero, plasma, saliva, hisopados de vías respiratorias superiores, esputo, cultivos bacterianos entre otros. Se estima el rendimiento de estos reactivos para aislar ADN/ARN de hasta 50 muestras en volúmenes de 130 µL por muestra.

4.1 Reactivos y materiales suministrados:

- Buffer de lisis (16 mL)
- Perlas magnéticas (1.3 mL)
- Buffer de lavado (30 mL)
- Buffer de elución (6 mL)



4.2 Reactivos y materiales requeridos, pero no suministrados:

- Proteinasa K (10 mg/mL)
- 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 Isotónica (SSI), VTM)
- Solución de lisis de eritrocitos (en caso de necesitarlo solicitarlo al proveedor)

5. Consideraciones 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, por lo tanto, se deben mezclar perfectamente por agitación o vortex antes de su uso.
- Se puede sustituir el buffer de elución por agua pura destilada y estéril, agua libre de nucleasas o buffer TE (Tris-EDTA) si el experimento así lo requiere.

6. 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 ADN o ARN.
- **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.

7. Procedimiento

Siga las indicaciones como se describen a continuación.

1. Recolección y preparación según el tipo de muestra:

- A. Oral o nasofaríngea: Obtenga la muestra con ayuda de un hisopo, luego almacénelo en seco (sin ningún medio de preservación) en un recipiente estéril. Posteriormente, resuspenda el hisopo en 300 µL de buffer de lisis, mezcle por vortex y transfiera el contenido a un tubo de 1.5 a 2 mL y pase directamente al paso III del siguiente apartado.
- B. De esputo: Recolecte la muestra de acuerdo a las técnicas de obtención de esputo y almacénelo en un contenedor estéril. NOTA: Si la muestra es altamente viscosa caliente a 56 °C hasta disminuir la viscosidad, se recomienda diluir la muestra 1:1 SSI (150 µL de muestra: 150 µL de SSI). Si la viscosidad no se elimina se recomienda agregar 20 µL de proteinasa K a la mezcla e incúbela a 56 °C por 30-60 minutos.
- C. Sangre: Siga el procedimiento estándar para la toma de muestra de sangre, luego obtenga los leucocitos utilizando una solución de lisis de eritrocitos
 - i. Resuspenda 1 mL de sangre en 1 mL de solución de lisis de eritrocitos y mezcle por vortex
 - ii. Centrifugue a 3500 rpm por 5 minutos
 - iii. Repetir i y ii hasta obtener el paquete de leucocitos (pelet blanco)
 - iv. Resuspenda en 150 µL de PBS1X.
- D. Cultivos bacterianos: Obtenga el pellet bacteriano de al menos 1 mL de bacterias y resuspenda en 150 µL de buffer PBS 1X.
- E. Muestras sólidas de tejidos/alimentos: Triture y mezcle 60 mg (aproximadamente) en 130 µL de solución isotónica de cloruro de sodio (SSI) o buffer PBS 1X, después agregue 20 µL de proteinasa K a la mezcla e incúbela a 56 °C por 30-60 minutos o hasta que se observe una solución transparente (sin sólidos resuspendidos).



NOTA 1: Las muestras pueden almacenarse por máximo 5 días a 4 °C o hasta por dos semanas a - 20 °C y, si es necesario más tiempo almacene a - 70 °C para una duración de 6 meses.

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

NOTA 3: Para la lisis de eritrocitos puede contactar a su proveedor para solicitar el material y el protocolo de uso.

2. Procesamiento de la muestra

- I. Pase 150 µL de la muestra preparada en un tubo de 1.5-2 mL estéril.
- II. Antes de utilizar el buffer de lisis mézclelo verticalmente durante 10 segundos, después tome 300 µL de buffer de lisis y agréguelos al tubo de 1.5-2 mL donde previamente se colocó la muestra.
- III. Tome el contenedor de las perlas magnéticas y agítelo de forma vertical por 10 segundos o hasta que el contenido sea homogéneo, tome 25 µL de las perlas magnéticas y deposítelas en el tubo con la muestra posteriormente ciérrelo perfectamente, mezcle por vortex durante 1 minuto y deje incubar a temperatura ambiente por 5 minutos.
- IV. Coloque el tubo en una gradilla magnética o con imán de alta potencia a la altura del líquido, déjelo en esa posición hasta que la mezcla se aclare (aproximadamente 1-2 minutos), posteriormente sin quitar el tubo de la gradilla magnética o imán retire completamente el sobrenadante sin llevarse las perlas magnéticas.
- V. Agregue 500 µL de buffer de lavado 'etanol al 80%' y mezcle por vortex durante 10 segundos luego coloque el tubo en la gradilla con el imán/magneto hasta que la mezcla se aclare (aproximadamente 1-2 minutos), sin retirar el tubo de la gradilla magnética proceda a remover el sobrenadante sin llevarse las perlas magnéticas.
- VI. **(Adicional)** Si retiro completamente el buffer de lavado puede **omitir** este paso. Coloque el tubo en la gradilla con el imán/magneto por 2 minutos y remueva completamente el sobrenadante evitando llevarse las perlas magnéticas. NOTA: si no se remueve por completo el buffer de lavado puede inhibir las reacciones posteriores.
- VII. Caliente 45-100 µL del buffer de elución a 65°C durante 3 minutos y agréguelos al tubo de 1.5-2 mL.
- VIII. Mezcle por vortex durante 30 segundos, coloque el tubo en la gradilla con el imán/magneto por 2 minutos y recolecte completamente el sobrenadante y transfíeralo en un tubo nuevo y estéril.

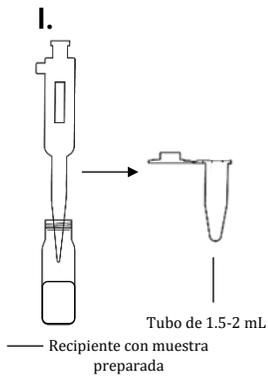
NOTA 1. Se recomienda usar PSB 1X o solución de conservación salina isotónica normal y VTM (inactivado) para las muestras de hisopado de vías respiratorias.

NOTA 2. Este kit se utiliza para extraer ADN/ARN obteniendo únicamente trazas de ácido nucleico, por lo que no es adecuado para la cuantificación por espectrofotómetro UV.

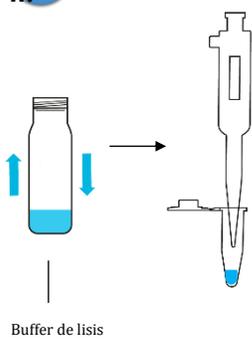
1 Recolecte y prepare según el tipo de muestra:



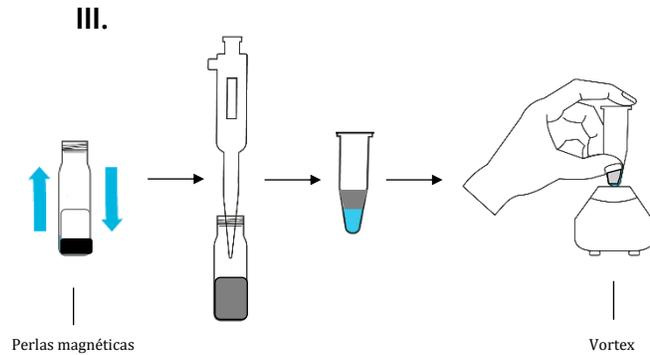
2 Procesamiento



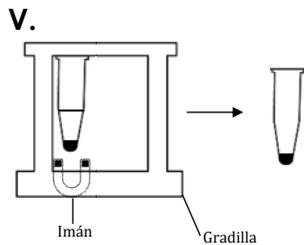
- Transfiera 150 μ L de muestra preparada al tubo de 1.5-2 mL.



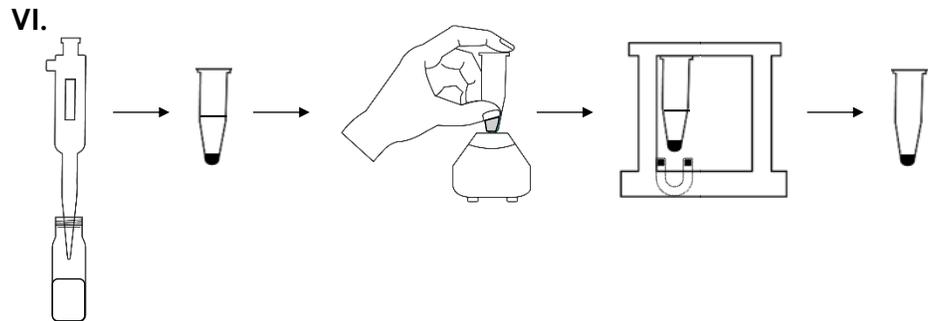
- Agite el buffer de lisis por 10 segundos
- Transfiera 300 μ L



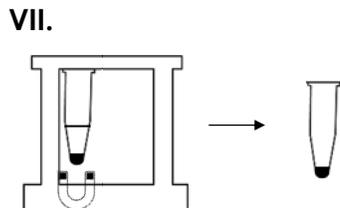
- Agite verticalmente el contenedor de las perlas magnéticas por 10 segundos
- Transfiera 150 μ L de perlas magnéticas
- Realice vortex por 1 minuto
- Deje reposar por 5 minutos a temperatura ambiente



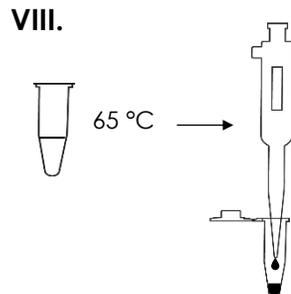
- Coloque el tubo en una gradilla y un imán debajo de este.
- Espere 1-2 minutos
- Retire el sobrenadante sin llevarse las perlas magnéticas.



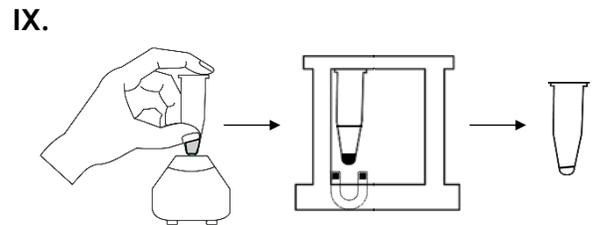
- Agregue 500 μ L de etanol al 70% (no incluido)
- Mezcle por vortex por 10 segundos
- Coloque el tubo en la gradilla y debajo el imán
- Espere 1-2 minutos y retire el sobrenadante sin llevarse las perlas magnéticas
- Repita este paso 3 veces.



- (Adicional) Retire el restante de sobrenadante sin llevarse las perlas magnéticas, coloque el tubo en la gradilla con el imán debajo.



- Caliente de 45-100 μ L del buffer de elución a 65°C por 3 minutos.
- Agregue el buffer de elución previamente calentado.



- Mezcle por vortex durante 30 segundos
- Coloque el tubo en la gradilla con el imán por 2 minutos
- Recolecte todo el sobrenadante sin llevarse las perlas magnéticas
- Coloque el sobrenadante recolectado en un tubo nuevo y estéril.

8. Referencias

- [1]. 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.
- [2]. 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.

9. 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
	Uso para investigación

Para más información ingresa a: www.amunet.com.mx