



CONTENIDO

Uso previsto	3
Introducción	3
Principio	3
Instrucciones de uso	4-6
Estabilidad y almacenamiento de los reactivos	7
Contenido	7
Consideraciones adicionales	7
Referencias	8
Índice de símbolos	8

MagnetiDNA 2

Kit de extracción de ADN/ARN genómico

REF DMPUR03

Almacene según su etiqueta individual

Versión 2.1



Uso previsto

MagnetiDNA 2 es un kit diseñado para la extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN) y/o ácido ribonucleico (ARN) mediante el uso de perlas magnéticas a partir de muestras de suspensiones de células, hisopados respiratorios y/o saliva.

Introducción

Los ácidos nucleicos están formados por nucleótidos y su estructura se compone de tres partes: un azúcar de cinco carbonos o pentosa (Desoxirribosa para el ADN o Ribosa para el ARN), uno o más grupos fosfato y una base nitrogenada [1].

El uso de ADN/ARN tiene una gran variedad de aplicaciones como lo es el diagnóstico molecular, para ello es necesario realizar la extracción de ácidos nucleicos (ADN/ARN), la cual consiste en una lisis celular para liberar las moléculas en una fase acuosa que es separada de los restos celulares por centrifugación. Las proteínas son removidas de la fase acuosa con solventes orgánicos (como fenol o cloroformo). El ácido nucleico, que permanece en la fase acuosa, precipita con etanol y posteriormente es purificado y suspendido en el eluyente adecuado. El material genético resultante se podrá utilizar para hacer el diagnóstico mediante la técnica molecular adecuada (PCR, NESTED-PCR, qPCR, RT-PCR, RFLPS, AFLP's, entre otras) [1]. Asimismo, la extracción de ADN y ARN se utiliza para investigaciones, aplicaciones clínicas y experimentales en áreas de la medicina humana, veterinaria y procesos industriales. Su estudio es fundamental para comprender cómo se desarrollan las enfermedades, cómo se desenvuelve el organismo y crear nuevos tratamientos [2]. La extracción de ADN/ARN puede ser a partir de una amplia gama de muestras como: células bacterianas y de mamíferos, tejidos vegetales, tejidos fúngicos, tejidos de mamíferos, sangre, plasma, suero, virus, hisopos bucales y nasales, etc. [3]. Sin embargo, es indispensable que los ácidos nucleicos sean de gran calidad y pureza según su uso [4].

Principio

Este kit aprovecha la carga del ADN/ARN, 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 [5]. 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 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. 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 [6].

INSTRUCCIONES DE USO

PASO UNO: PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Obtención: Esto dependerá del tipo de muestra, por lo tanto, considere lo siguiente:

Identifique cada uno de los materiales provistos por el kit de extracción MagnetiDNA 2 y asegúrese de contar con todo lo necesario, consulte la pág. 7, sección **Contenido**.

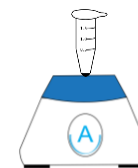
- A. Oral o nasofaríngea
 - o Obtenga la muestra con ayuda de un hisopo, luego almacénelo en seco (sin ningún medio de preservación) en un recipiente estéril. Posteriormente, resuspenda el hisopo en 400 µL de buffer de preservación, mezcle por vortex y transfiera el contenido a un tubo de 1.5 a 2 mL.
- B. De esputo
 - o Recolecte la muestra de acuerdo a las técnicas de obtención de esputo y tome 200 µL de esputo y agregue 200 µL de buffer de preservación en un tubo de 1.5-2 mL.
- C. Sangre
 - o Siga el procedimiento estándar para la toma de muestra de sangre, luego obtenga los leucocitos utilizando una solución de lisis de eritrocitos (para más información contacte al proveedor), centrifugue y resuspenda en 400 µL de Solución de preservación.
- D. Cultivos bacterianos
 - o Obtenga el pellet bacteriano de al menos 1 mL de bacterias y resuspenda en 400 µL de Solución de preservación.
- E. Muestras sólidas de tejidos/alimentos:
 - o Triture y mezcle 60-100 mg (aproximadamente) en 130 µL de solución isotónica de cloruro de sodio (SSI) o buffer PBS 1X (o utilice la técnica para triturar de su preferencia) después agregue 200 µL de solución de preservación.
- F. Suspensión de células (hisopado en solución/buffer de transporte)
 - o Transfiera 200 µL de la suspensión a un tubo de 1.5-2 mL y agregue 200 µL de Solución de preservación.

Nota: En caso de que requiera procesar más cantidad de muestra, puede hacerlo calculado la proporción de los reactivos a emplear pues estos están pensados para muestras de máximo 500 µL.

PASO DOS: EXTRACCIÓN

Identifique cada uno de los materiales provistos por el kit de extracción MagnetiDNA 2 y asegúrese de contar con todo lo necesario, consulte la pág. 7, sección **Contenido**.

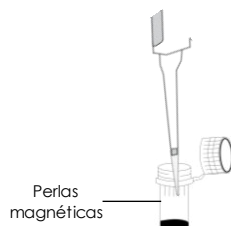
- I. Agregue 200 µL de buffer de unión y 20 µL de proteinasa K a la muestra. Mezcle por pipeteo hasta que se vea homogéneo.
- II. Incube las muestras a 60 °C por 20 minutos mezclando por vortex cada 5 minutos.



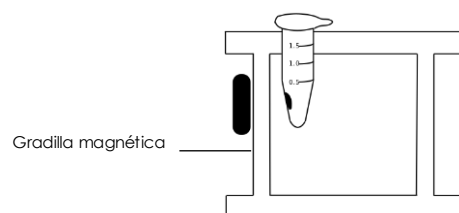
- III. Centrifugue cada muestra a 3500 rpm durante 1 minuto, recolecte toda la muestra y colóquela en nuevo tubo de 1.5-2 mL.
Nota: Si desea eliminar el ARN, agregue 4 µL de RNasa A (100 mg/mL) a la muestra.



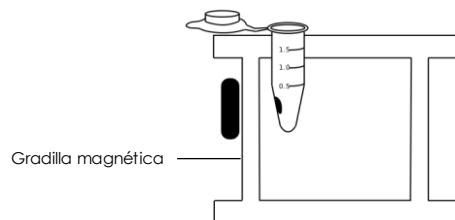
- IV. Agregue 300 µL de isopropanol a la muestra luego agite las perlas magnéticas hasta que se visualice una solución homogénea, después coloque 20 µL de las perlas magnéticas en la muestra.



- V. Mezcle por vortex durante 10 segundos luego deje reposar a temperatura ambiente por 5 minutos o mezcle por vortex cada 2 minutos las perlas para evitar su precipitación y asegurar la interacción de estas con la muestra.
- VI. Coloque el tubo en una gradilla magnética, déjelo en esa posición hasta que se aprecie que la mayoría de las perlas magnéticas se han aglomerado cerca del imán (aproximadamente 1 minuto).



- VII. Retire completamente el sobrenadante sin quitar el tubo de la gradilla y sin llevarse las perlas magnéticas.



PASO TRES: LAVADO

Identifique cada uno de los materiales provistos por el kit de extracción MagnetiDNA 2 y asegúrese de contar con todo lo necesario, consulte la pág. 7, sección **Contenido**.

- I. Retire el tubo de la gradilla magnética, agregue 600 µL de buffer de lavado, cierre el tubo y mezcle por vortex durante 10 segundos.
- II. Coloque el tubo en una gradilla magnética, déjelo en esa posición hasta que se aprecie que la mayoría de las perlas magnéticas se han aglomerado cerca del imán (aproximadamente 1 minuto).
- III. Retire completamente el sobrenadante sin quitar el tubo de la gradilla y sin llevarse las perlas magnéticas.
- IV. Retire el tubo de la gradilla magnética, agregue 600 µL de etanol al 80%, cierre el tubo y mezcle por vortex durante 1 minuto.
- V. Coloque el tubo en una gradilla magnética, déjelo en esa posición hasta que se aprecie que la mayoría de las perlas magnéticas se han aglomerado cerca del imán (aproximadamente 1 minuto).
- VI. Retire completamente el sobrenadante sin quitar el tubo de la gradilla y sin llevarse las perlas magnéticas.
- VII. Repita dos veces más el paso IV al VI para realizar un total de tres lavados con etanol al 80%.
- VIII. Abra el tubo con la muestra y déjelo en un lugar limpio (no exteriores) por 2 a 5 minutos para eliminar los residuos de etanol.

PASO CUATRO: LIBERACIÓN

Identifique cada uno de los materiales provistos por el kit de extracción MagnetiDNA 2 y asegúrese de contar con todo lo necesario, consulte la pág. 7, sección **Contenido**.

- I. Retire el tubo de la gradilla magnética, agregue de 50-100 µL de buffer de elución, cierre el tubo y mezcle por vortex durante 20 segundos.
Nota: Considere emplear 50 µL cuando requiera la mayor concentración y 100 µL para una concentración más diluida de ADN/ARN, esto con base en la calidad de la muestra procesada y el volumen a emplear para los ensayos.
- II. Incube el tubo por 10 minutos a 60 °C y mezcle por vortex cada 3 minutos para evitar la precipitación de las perlas.
- III. Coloque el tubo en una gradilla magnética, déjelo en esa posición hasta que se aprecie que la mayoría de las perlas magnéticas se han aglomerado cerca del imán (aproximadamente 1 minuto).
- IV. Recolecte completamente el sobrenadante (ADN/ARN) sin quitar el tubo de la gradilla y sin llevarse las perlas magnéticas.
- V. Transfiera el sobrenadante a un tubo nuevo de 1.5-2 mL y rotule.
Nota: Si no usará el ADN/ARN inmediatamente, almacénalo a temperaturas iguales o menores a -20 °C.

Estabilidad y almacenamiento de los reactivos

- Almacene cada componente según lo indicado.
- No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.

Contenido

INCLUIDOS

- Buffer de elución (4 mL)
- Buffer de lavado (32 mL)
- Buffer de preservación (32 mL).
- Buffer de unión (11 mL)
- Perlas magnéticas (1.05 mL)
- Proteinasa K (1.05 mL)
- Etanol al 80% (32 mL)
- Isopropanol absoluto (18 mL)

REQUERIDOS PERO NO INCLUIDOS

- Centrifuga
- Micropipetas
- Microtubo(s) antiadherente de 1.5 mL
- RNasa A (100 mg/mL)
- Soporte magnético para aplicaciones moleculares o imán de alta potencia
- Vortex

NOTA: Algunos de los reactivos/equipos pueden ser adquiridos en conjunto o por separado, para ello visite www.amunet.com.mx

Consideraciones adicionales

- Asegúrese de utilizar la cantidad indicada de cada reactivo, ya que demasiada o muy poca puede conducir a una desviación de los resultados.
- 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.
- No intercambie reactivos de diferentes lotes ni use reactivos de otras pruebas disponibles comercialmente. Los componentes de esta prueba se combinan con precisión para un rendimiento óptimo.
- Las consumibles deben ser nuevos. Se recomienda irradiar con luz UV por 15 minutos antes de su uso, las micropipetas previamente limpiadas con cloro y etanol asegúrese de no dejar residuos.
- Se recomienda el uso de equipo de protección al trabajar muestras.
- PRECAUCIÓN: Permita que los reactivos y las muestras se descongelen completamente antes de su uso. Mezcle el reactivo suavemente antes de usar teniendo la precaución de no generar espuma. Regrese a su temperatura de almacenamiento después de su uso.
- Evite interrupciones prolongadas de los pasos del ensayo. Asegure las mismas condiciones de trabajo para todos los tubos.
- Calibre las micropipetas con frecuencia para asegurar la precisión de la distribución de muestras/reactivos. Use puntas diferentes de micropipeta en cada muestra y reactivo para evitar contaminación cruzada.
- El kit podría verse afectada por el polvo, reactivos químicos y/o sustancias como hipoclorito de sodio, ácidos, álcalis, etanol, etc. No realice el ensayo en presencia de estas sustancias y utilice puntas nuevas de preferencia con filtro.
- Todas las muestras de origen biológico deben considerarse potencialmente infecciosas. El cumplimiento estricto de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) puede garantizar la seguridad del personal.
- Todos los productos de desecho generados por esta prueba deben disponerse de acuerdo a la NOM-087 vigente sobre el manejo de Residuos Biológico infecciosos.

Referencias

1. Cruz Jaramillo, J. L., & Ramírez Ortega, F. A. (Abril de 2017). SAGARPA. Obtenido de Protocolo de extracción de DNA y RNA, a partir de semillas y hojas: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/728754/7._PD._Extracci_n_de_DNA_y_RNA_a_partir_de_semillas_y_hojas_1.0_2017.pdf
2. TCL Grup. (2024). Obtenido de Extracción de ADN y ARN: ¿Qué equipos me sirven?: <https://www.tclgroup.cl/es/blog/extraccion-adn-arn>
3. Thermo fisher Scientific . (s.f.). Extracción de ADN/ARN: <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/life-science/dna-rna-purification-analysis/dna-extraction.html>
4. Sigma Aldrich . (s.f.). Purificación del ADN y ARN : <https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/applications/genomics/dna-and-rna-purification?srsltid=AfmBOoqjdHYXzXDikzPHGuVZu2VTM23SGv2harRvXhAfd6nZ379Ldwwp>
5. 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.
6. 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.

Índice de símbolos

	Consultar el instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar según aplique (2 – 8 °C / 2 – 28 °C)
	No utilizar si el paquete está dañado
UPI	Uso para investigación

	Caducidad
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
	No reutilizar