

# Instruções de Uso

## Kit de Extração de DNA/RNA

# SAMPLE FLEX *pht*

Rev.: 06/03/2023  
código: K2.1

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| <b>ÍNDICE</b> .....  | 2  |
| <b>1- Finalidade do Kit</b> .....  | 3  |
| <b>2- Princípio de ação</b> .....  | 3  |
| <b>3- Apresentação Comercial</b> .....   | 3  |
| <b>4- Equipamentos e Insumos</b> .....   | 4  |
| <b>5- Reagentes Contidos no Kit</b> .....  | 4  |
| <b>6- Insumos Contidos no Kit</b> .....  | 4  |
| <b>7- Materiais necessários, não fornecidos no Kit</b> .....   | 4  |
| <b>8- Condições de Armazenamento e Transporte</b> .....  | 5  |
| <b>9- Amostras</b> .....   | 5  |
| <b>10- Cuidados Especiais</b> .....  | 5  |
| <b>11- Medidas de Segurança</b> .....  | 5  |
| <b>12- Preparo dos reagentes (reconstituição)</b> .....  | 6  |
| <b>13- Protocolo para tecidos</b> .....  | 6  |
| <b>14- Preparo das amostras de sangue</b> .....  | 9  |
| <b>15- Protocolo para extração de DNA/RNA de sangue ou fluidos corporais ricos em matéria orgânica</b> ..... | 9  |
| <b>16- Protocolo para extração VIRAL e/ou fluidos corporais pobres em matéria orgânica</b> .....             | 11 |
| <b>17- Limitações</b> .....  | 12 |
| <b>18- Referência bibliográfica</b> .....  | 12 |
| <b>19- Atendimento ao consumidor</b> .....   | 12 |
| <b>20- Simbologia Utilizada nos Rótulos</b> .....  | 13 |

### 1- Finalidade do Kit

O **Kit de Extração de DNA/RNA - SAMPLE FLEX pht** é um produto desenvolvido para o isolamento e purificação *in vitro* de DNA e RNA de: vírus, tecidos mortos, tecidos vivos, tecidos congelados, tecidos cartilagosos, sangue, sangue total, plasma sanguíneo, soro, fluídos corporais, saliva, pelos, cultura de células, amostras ambientais e água, além de bactérias, vírus e fungos presentes nas amostras, Swab e outros. Os ácidos nucleicos obtidos podem ser utilizados para variadas aplicações como PCR, RT-PCR, qPCR, RTq-PCR e sequenciamento.

**Atenção:** existem diferenças nos protocolos para extração de DNA/RNA. Ver Tabela abaixo para escolher o protocolo que melhor se adapte à sua amostra.

| AMOSTRAS                                      | Protocolo item 13   | Protocolo item 15 | Protocolo item 16 |
|---|---|-------------------|-------------------|
| Vírus   |   |                   | ✓                 |
| Tecido Animal                                 | ✓   |                   |                   |
| Tecido muscular                               | ✓   |                   |                   |
| Tecidos mortos                                | ✓   |                   |                   |
| Tecidos vivos                                 | ✓   |                   |                   |
| Tecidos cartilagosos                          | ✓   |                   |                   |
| Tecido fixado em etanol                       | ✓   |                   |                   |
| Sangue  |   | ✓                 |                   |
| Sangue total                                  |   | ✓                 |                   |
| Plasma sanguíneo                              |   | ✓                 |                   |
| Sangue seco                                   |   | ✓                 |                   |
| Soro  |   | ✓                 |                   |
| Fluidos corporais (pobre em matéria orgânica) |   |                   | ✓                 |
| Fluidos corporais (ricos em matéria orgânica) |   | ✓                 |                   |
| Saliva  |   |                   | ✓                 |
| Pelo  | ✓   |                   |                   |
| Amostras em Swab                              |   |                   | ✓                 |
| Cultura de células                            |   | ✓                 |                   |
| Amostras ambientais                           |   | ✓                 |                   |
| Água  |   | ✓                 |                   |
| <b>OUTRAS AMOSTRAS</b>                        | Esse Kit pode ser utilizado em outras amostras não presentes na tabela.<br>Em caso de dúvidas entrar em contato com o nosso setor técnico através do e-mail <a href="mailto:pht@phoneutria.com.br">pht@phoneutria.com.br</a> ou pelo telefone <b>+55 31 99585-3050</b> ou <b>+55 31 3427-6413</b> . |                   |                   |

### 2- Princípio de ação

O **Kit de Extração de DNA/RNA - SAMPLE FLEX pht** propicia a lise do material biológico liberando os ácidos nucleicos, seguido de uma purificação do DNA e do RNA via utilização de colunas de sílica. Os produtos gerados são ácidos nucleicos concentrados e puros, ideais para utilização em diversas técnicas de biologia molecular, diagnóstico molecular e sequenciamento.

### 3- Apresentação Comercial

- Kit de extração para 50 extrações (código: k2-50);
- Kit de extração para 100 extrações (código: k2-100);
- Kit de extração para 250 extrações (código: k2-250);

#### 4- Equipamentos e Insumos

O Kit de Extração de DNA/RNA - SAMPLE FLEX pht é composto por:

| Reagentes/Insumos                        | Quantidade por Kit         |                             |                            |
|--|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|  | 50 extrações               | 100 extrações               | 250 extrações              |
| Z4 - Proteinase K                        | 01 frasco - PK liofilizada | 02 frascos - PK liofilizada | 01 frasco - PK liofilizada |
| K0.0 - Tampão ALR-PK                     | 01 frasco                  | 02 frascos                  | 01 frasco                  |
| K0.1 - Solução de Lise                   | 01 frasco                  | 02 frascos                  | 01 frasco                  |
| K0.2 - Etanol                            | 01 frasco                  | 02 frascos                  | 01 frasco                  |
| K0.3 - Solução A                         | 01 frasco                  | 02 frascos                  | 01 frasco                  |
| K0.4 - Solução B                         | 01 frasco                  | 02 frascos                  | 01 frasco                  |
| K0.5 - Tampão de eluição                 | 02 frascos                 | 04 frascos                  | 01 frasco                  |
| K0.6 - Tampão de reconstituição          | 01 frasco                  | 02 frascos                  | 01 frasco                  |
| C1- Carreador                            | 01 frasco                  | 02 frascos                  | 01 frasco                  |
| K0.7 - Tubo de lise                      | 50 unid                    | 100 unid                    | 250 unid                   |
| K0.8 - Coluna de sílica com tubo coletor | 50 unid                    | 100 unid                    | 250 unid                   |
| K0.9 - Tubo coletor                      | 100 unid                   | 200 unid                    | 500 unid                   |

#### 5- Reagentes Contidos no Kit

- Z4: Proteinase K (PK) - Enzima Proteinase K liofilizada;
- K0.0: Tampão ALR-PK
- K0.1: Solução de Lise - Guanidina com solução tampão e detergente;
- K0.2: Etanol - Álcool etílico 95%;
- K0.3: Solução A - Guanidina com solução tampão;
- K0.4: Solução B - Solução tampão;
- K0.5: Tampão de eluição - Solução tampão;
- K0.6: Tampão de reconstituição - Solução tampão;
- C1: Carreador.

#### 6- Insumos Contidos no Kit

- K0.7: Tubo de lise - Tubo polipropileno;
- K0.8: Coluna de sílica com tubo coletor - Tubo polipropileno com membrana de sílica;
- K0.9: Tubos coletor - Tubo polipropileno;

#### 7- Materiais necessários, não fornecidos no Kit

- Micropipetas e ponteiros estéreis com filtro (0,5-10µL, 10-100µL, 100-1000µL);
- Capela de fluxo laminar;
- Microtubo 2ml ou 1,5 ml com tampa para eluir o DNA e o RNA da coluna;
- Microcentrífuga;
- Agitador Vórtex;
- Banho-Maria;
- Equipamento de Proteção Individual (máscara; luvas; óculos; etc).

### 8- Condições de Armazenamento e Transporte

Todos os produtos podem ser transportados em temperatura ambiente de 15°C a 30°C ±5°C. Manter ao abrigo da luz e umidade. A temperatura de armazenamento é de 15°C a 25°C ±5°C. Manter ao abrigo da luz e umidade.

Após reconstituição, armazenar o reagente (Z4) Proteinase K à -20°C. Ao receber o kit, retire o Carreador (C1) e armazene à -20°C.

### 9- Amostras

O **Kit de Extração de DNA/RNA - SAMPLE FLEX pht** pode ser utilizado para vírus, tecidos mortos, tecidos vivos, tecidos congelados, tecidos cartilagosos, sangue, sangue total, plasma sanguíneo, soro, fluidos corporais, saliva, pelos, cultura de células, amostras ambientais e água, além de bactérias, vírus e fungos presentes nas amostras, Swab e outros.

### 10- Cuidados Especiais

Antes de utilizar o produto, leia as instruções de uso;

**PRODUTO DE USO ÚNICO. PROIBIDO REUTILIZAR;**

Não aceitar o recebimento do produto quando ele estiver com embalagens e/ou lacres de segurança danificados;

A manipulação de qualquer etapa desse Kit deve ser realizada por especialistas devidamente treinados;

O desempenho do Kit está diretamente relacionado aos equipamentos e instrumentos utilizados que necessitam estar devidamente calibrados e em boas condições de uso;

O nível de segurança para a manipulação de qualquer amostra alvo, deve ser diretamente relacionado ao seu nível de periculosidade;

O descarte de qualquer material biológico ou químico utilizado durante a manipulação deve ser feito conforme o procedimento de gerenciamento de resíduos da instituição;

Não utilizar o kit fora da data de validade;

Cuidado ao manusear amostras biológicas para evitar contaminação das soluções do Kit; caso ocorra contaminação, os resultados ficarão imprecisos e inapropriados;

Não congele os reagentes do kit (exceto enzimas e carreador).

Evite ao máximo o congelamento/descongelamento das amostras.

Para evitar a contaminação cruzada com o kit, recomenda-se que o estado de saúde dos profissionais seja verificado antes da aplicação da técnica.

Para obtenção de informações referentes à biossegurança e ações em casos de acidentes com o produto, consultar a FISPQ (Ficha de Segurança de Produto Químico) disponíveis no SAC (Serviço de Assistência ao Cliente) da Phoneutria Biotecnologia e Serviços através do e-mail **pht@phoneutria.com.br** ou pelo telefone **+55 31 99585-3050** ou **+55 31 3427-6413**.

### 11- Medidas de Segurança

**Atenção!** Para manipulação do **Kit de Extração de DNA/RNA - SAMPLE FLEX pht** será necessário o uso de todos os EPI's (não fornecidos pelo kit): jaleco, luvas de procedimento, máscaras N95 ou cirúrgicas, óculos de proteção e avental de mangas longas.

Os reagentes que compõem o **Kit de Extração de DNA/RNA - SAMPLE FLEX pht** contêm as seguintes características: Inflamáveis; perigosos se ingeridos; irritante aos olhos, sistema respiratório e pele; pode causar sensibilização por inalação; vapores podem causar enjoos e tonturas. Evite contato com a pele e mucosas; não

inalar os reagentes liofilizados; manusear os reagentes longe de fontes de ignição; em casos de acidentes, procure cuidados médicos imediatamente.

## **12- Preparo dos reagentes (reconstituição)**

### **Proteinase K:**

Kit para 50 reações: reconstituir a Proteinase K (PK) liofilizada com 210 µl de tampão de reconstituição. Após, deverá ser armazenada à -20°C.

Kit para 100 reações: reconstituir a Proteinase K (PK) liofilizada com 420 µl de tampão de reconstituição. Após, deverá ser armazenada à -20°C.

Kit para 250 reações: reconstituir a Proteinase K (PK) liofilizada com 1050 µl de tampão de reconstituição. Após, deverá ser armazenada à -20°C.

### **Carreador:**

Kit para 50 reações: reconstituir o Carreador liofilizado com 105 µl de tampão de reconstituição. Após, deverá ser armazenado à -20°C.

Kit para 100 reações: reconstituir o Carreador liofilizado com 210 µl de tampão de reconstituição. Após, deverá ser armazenado à -20°C.

Kit para 250 reações: reconstituir o Carreador liofilizado com 525 µl de tampão de reconstituição. Após, deverá ser armazenado à -20°C.

## **13- Protocolo para tecidos**

**Obs:** A utilização do carreador é opcional; recomendamos apenas para amostras com baixa concentração de ácidos nucleicos (DNA e/ou RNA), ou em quantidade/volumes inferiores ao recomendado.

**Obs:** Em caso de tecido fixado em etanol, submergir a amostra em 15 ml de Água ultrapura e incube por 5 minutos (repetir esse passo 2 vezes).

**Para reconstituir a PK, ver item 12: Preparo dos reagentes (reconstituição)**

**Para reconstituir o Carreador, ver item 12: Preparo dos reagentes (reconstituição)**

1- Colocar cerca de **5 a 30 mg** de tecido em um Tubo de Lise, identifique o tubo de lise.

**Obs:** A quantidade ideal pode variar de acordo com o tecido utilizado. Caso seja necessária a utilização de uma quantidade maior que a recomendada, divida a amostra duas ou mais vezes e utilize um tubo de lise para cada amostra. Prossiga com o protocolo abaixo. Atenção, o uso excessivo de amostras pode gerar um baixo rendimento de DNA/RNA purificado.

2- Após identificar os tubos de lise, adicionar **200 µl** de **Tampão ALR-PK** em cada Tubo de Lise.

3- Adicionar **4 µl** de **PK reconstituída** em cada Tubo de Lise com sua amostra. homogeneizar no vortex.

4- Incubar a **56°C** por **2 horas**. Duas horas é um tempo suficiente para a lise da maioria dos tecidos, entretanto, não há problema em aumentar esse tempo, caso necessário (2 – 12 horas).

Obs: reduzir o tempo só é recomendado caso ocorra a dissolução completa da sua amostra.

5- Adicionar ao tubo de lise, **400 µl de Solução de Lise**. Misturar no vórtex (velocidade máxima) por 5 segundos e centrifugar rapidamente (spin) para retirar o material da tampa do tubo.

6- Incubar a 56°C por 5 a 15 minutos.

**Obs:** em amostras com excesso de gordura e/ou quando ainda existirem fragmentos de tecido alvo, é recomendado centrifugar por 5 minutos, em velocidade máxima, transferir a fase aquosa para um novo tubo (**microtubo de 1,5 ml ou 2,0 mL** não incluso no kit) e então prosseguir com o protocolo.

7- Adicionar ao tubo de lise, **2 µl de carreador** (opcional).

8- Adicionar **100 µl de Etanol**. Homogeneizar com a pipeta.

9- Transferir o volume total da amostra (~750µl) para a **Coluna de Sílica com Tubo coletor**, fechar a tampa da coluna e em seguida centrifugar por **3 minutos a 6.000 g**.

10- Transferir a coluna para um novo Tubo Coletor e descartar o Tubo Coletor com o filtrado. DNA/RNA está ligado na coluna.

11- Com a coluna em um novo Tubo Coletor, adicionar **350 µl de Solução A**. Centrifugar por **30 segundos a 10.000 g** com a tampa fechada. O DNA/RNA ficou ligado na coluna.

12- Adicionar **400 µl de Solução B**. Centrifugar **por 30 segundos a 10.000 g** com a tampa fechada. O DNA/RNA ficou ligado na coluna.

13- Transferir a Coluna para um novo Tubo Coletor e descartar o Tubo Coletor com o filtrado. O DNA/RNA está ligado na coluna.

14- Centrifugar novamente por **3 min a 10.000g** com a tampa da coluna fechada, e descartar o Tubo Coletor com o filtrado. O DNA/RNA está ligado na coluna. O objetivo é retirar toda solução B da coluna.

15- Transferir a Coluna para um Tubo de Eluição (**microtubo de 1,5 ml ou 2,0 mL** não incluso no kit). O DNA/RNA está ligado na coluna.

16- Incubar a coluna à Temperatura Ambiente (T.A) por **05-10 min com a tampa aberta**.

17- Adicionar em cada coluna, de **25 a 50 µl de Tampão de Eluição** livre de RNase/DNase. Dispensar diretamente no centro da membrana.

18- Incubar a **T.A.** por **3 min** (tampa da coluna fechada).

19- Centrifugar por **3 minutos a 10.000 g**, mantendo a tampa da coluna fechada. O DNA/RNA saiu da coluna.

**Obs:** Caso seja de interesse, realizar uma segunda eluição ou armazenar a coluna a -20°C para posteriormente realizar uma segunda eluição do material genético, repita o **passo 17 em diante**.

20- Usar ou estocar o DNA/RNA purificado. Geladeira ou gelo para uso imediato, -20°C ou temperatura inferior para uso posterior. A precipitação dos ácidos nucleicos é uma opção para conservar amostras por tempo prolongado. Use a solução de precipitação de ácidos nucleicos da PHT (não disponível nesse kit).

#### **14- Preparo das amostras de sangue**

Use preferencialmente sangue coletado com EDTA para evitar coagulação.

Para amostras de sangue com eritrócitos nucleados (exemplo: aves) use entre 10 e 50 µl de sangue total. Use salina, PBS ou TE (não fornecidos nesse kit), complete o volume para 140 µl e siga para o passo 1 do protocolo abaixo.

Para capa leucocitária (concentrado de leucócitos) utilize entre 20 – 100 µl da amostra e complete o volume para 140 µl. Use salina, PBS ou TE (não fornecido nesse kit). Siga para o passo 1 do protocolo abaixo.

Para amostras de sangue total (eritrócitos não nucleados) use de 20 a 140 µl e siga para o passo 1 do protocolo abaixo.

Para amostras de sangue total (eritrócitos não nucleados) com volume inferior a 140 µl, complete o volume para 140 µl com salina, PBS ou TE (não fornecido nesse kit) e siga para o passo 1 do protocolo abaixo.

Para amostras de sangue em papel ou swab, hidrate a amostra com 140 µl de salina, PBS ou TE (não fornecido nesse kit) por 10 minutos dentro do tubo de lise. Homogeneizar no vórtex por 5 segundos na velocidade máxima. Ao retirar o swab/papel, comprima-o contra a parede do tubo para recuperar toda sua amostra. Pequenos fragmentos de papel ou algodão não irão interferir no resultado. Siga para o passo 1 do protocolo abaixo.

#### **15- Protocolo para extração de DNA/RNA de sangue ou fluidos corporais ricos em matéria orgânica**

Veja detalhes sobre preparo das amostras acima (item 14).

**Para reconstituir a PK, ver item 12: Preparo dos reagentes (reconstituição)**

**Para reconstituir o Carreador, ver item 12: Preparo dos reagentes (reconstituição)**

1- Para Sangue, adicionar **20-140µl** de amostra em um Tubo de Lise, identifique o tubo de lise. (Para volume inferior a 140 µl, complete o volume para 140 µl com salina, PBS ou TE).

1.1 – Para fluidos corporais, adicionar **100 µl** de amostra em um Tubo de Lise, identifique o tubo de lise.

2- Adicionar **4 µl** de **PK reconstituída** em cada Tubo de Lise com sua amostra.

3- Adicionar **200 µl** de **Tampão ALR-PK** em cada Tubo de Lise. Homogeneizar no vortex.

4- Incubar a **56°C** de **30 minutos** a **2 horas**.

5- Adicionar ao tubo de lise, **400 µl de Solução de Lise**. Misturar com auxílio de pipeta até a solução ficar homogênea.

6- Incubar à temperatura ambiente por 5 a 10 minutos.

7- Adicionar ao tubo de lise, **2 µl de carreador** (opcional).

8- Adicionar **100 µl de Etanol**. Homogeneizar com a pipeta.

9- Transferir o volume total da amostra (~800µl) para a **Coluna de Sílica com Tubo Coletor**, fechar a tampa da coluna e em seguida centrifugar por 3 minutos a 6.000 g.

10- Transferir a coluna para um novo Tubo Coletor e descartar o Tubo Coletor com o filtrado. O DNA/RNA está ligado na coluna.

11- Com a coluna em um novo Tubo Coletor, adicionar **350 µl de Solução A**. Centrifugar por **30 segundos a 10.000 g** com a tampa fechada. O DNA/RNA ficou ligado na coluna.

12- Adicionar **400 µl de Solução B**. Centrifugar **por 30 segundos a 10.000 g** com a tampa fechada. O DNA/RNA ficou ligado na coluna.

13- Transferir a Coluna para um novo Tubo Coletor e descartar o Tubo Coletor com o filtrado. O DNA/RNA está ligado na coluna.

14- Centrifugar novamente por **3 min a 10.000g** com a tampa da coluna fechada, e descartar o Tubo Coletor com o filtrado. O DNA/RNA está ligado na coluna. O objetivo é retirar toda solução B da coluna.

15- Transferir a Coluna para um Tubo de Eluição (**microtubo de 1,5 ml ou 2,0 mL** não incluso no kit). O DNA/RNA está ligado na coluna.

16- Incubar a coluna a Temperatura Ambiente (T.A) por **05-10 min com a tampa aberta**.

17- Adicionar em cada coluna, de **25 a 50 µl de Tampão de Eluição** livre de RNase/DNase. Dispensar diretamente no centro da membrana.

18- Incubar a **T.A.** por **3 min** (tampa da coluna fechada).

19- Centrifugar por **3 minutos a 10.000 g**, mantendo a tampa da coluna fechada. O DNA/RNA saiu da coluna.

**Obs:** Caso seja de interesse, realizar uma segunda eluição ou armazenar a coluna a -20°C para posteriormente realizar uma segunda eluição do material genético, repita o **passo 17 em diante**.

20- Usar ou estocar o DNA/RNA purificado. Geladeira ou gelo para uso imediato, -20°C ou temperatura inferior para uso posterior. A precipitação dos ácidos nucleicos é uma opção para conservar amostras por tempo prolongado. Use a solução de precipitação de ácidos nucleicos da PHT (não disponível nesse kit).

**16- Protocolo para extração VIRAL e/ou fluidos corporais pobres em matéria orgânica.**

Amostra congelada: descongelar e mantê-la em gelo ou caixa térmica antes e durante do uso.

**Obs:** A utilização do carreador é opcional; recomendamos apenas para amostras com baixa concentração de ácidos nucleicos (DNA e/ou RNA), ou em quantidade/volumes inferiores ao recomendado.

**Para reconstituir a PK, ver item 12: Preparo dos reagentes (reconstituição)**

**Para reconstituir o Carreador, ver item 12: Preparo dos reagentes (reconstituição)**

- 1- Identificar os tubos de lise. Adicionar **100 µl de amostra** em cada tubo de lise.
  - 2- Adicionar 4 µl de **PK reconstituída** em cada tubo de Lise com sua amostra. Homogeneizar no vortex.
  - 3- Incubar de 1 e 10 minutos para ação efetiva da PK. Centrifugar rapidamente (spin) para retirar o material da tampa do tubo.
  - 4- Adicionar ao tubo de lise, **2 µl de carreador** (opcional).
  - 5- Adicionar ao tubo de lise, **400 µl de Solução de Lise**. Misturar no vórtex (velocidade máxima) por 5 segundos e centrifugar rapidamente (spin) para retirar o material da tampa do tubo.
- Atenção: se forem observadas macromoléculas (visíveis a olho nu), centrifugar o tubo de lise por 1 minuto a 10.000 g. Transferir o sobrenadante para um novo tubo (não fornecido no kit) e prosseguir para o passo 6. Macromoléculas podem prejudicar o processo por entupimento parcial ou total da coluna de sílica.
- 6- Adicionar **250 µl de Etanol**. Homogeneizar com a pipeta
  - 7- Transferir o volume total da amostra (~750µl) para a **Coluna de Sílica com Tubo coletor**, fechar a tampa da coluna e em seguida centrifugar por 2 minutos a 6.000 g.
  - 8- Transferir a coluna para um novo Tubo Coletor e descartar o Tubo Coletor com o filtrado. O DNA/RNA está ligado na coluna.
  - 9- Com a coluna em um novo Tubo Coletor, adicionar **350 µl de Solução A**. Centrifugar por **30 segundos a 10.000 g** com a tampa fechada. O DNA/RNA ficou ligado na coluna.
  - 10- Adicionar **400 µl de Solução B**. Centrifugar **por 30 segundos a 10.000 g** com a tampa fechada. O DNA/RNA ficou ligado na coluna.
  - 11- Transferir a Coluna para um novo Tubo Coletor e descartar o Tubo Coletor com o filtrado. DNA/RNA está ligado na coluna.

12- Centrifugar novamente por 3 min a 10.000g com a tampa da coluna fechada, e descartar o Tubo Coletor com o filtrado. O DNA/RNA está ligado na coluna. O objetivo é retirar toda solução B da coluna.

13- Transferir a Coluna para um Tubo de Eluição (**microtubo de 1,5 ml ou 2,0 mL não incluso no kit**). O DNA/RNA está ligado na coluna.

14- Incubar a coluna à Temperatura Ambiente (T.A) por **05-10 min com a tampa aberta**.

15- Adicionar em cada coluna, de **25 a 50 µl de Tampão de Eluição** livre de RNase/DNase. Dispensar diretamente no centro da membrana.

16- Incubar a T.A. por 3 min (tampa da coluna fechada).

17- Centrifugar por 3 minutos a 10.000 g, mantendo a tampa da coluna fechada. O DNA/RNA saiu da coluna.

**Obs:** Caso seja de interesse, realizar uma segunda eluição ou armazenar a coluna a -20°C para posteriormente realizar uma segunda eluição do material genético, repita o **passo 15 em diante**.

18- Usar ou estocar o DNA/RNA purificado. Geladeira ou gelo para uso imediato, -20°C ou temperatura inferior para uso posterior. A precipitação dos ácidos nucleicos é uma opção para conservar amostras por tempo prolongado. Use a solução de precipitação de ácidos nucleicos da PHT (não disponível nesse kit).

### **17- Limitações**

Temperaturas de armazenamento do kit abaixo da recomendada podem contribuir para a precipitação da solução de Lise. No caso de formação de precipitado, deve-se incubar a solução em Banho-Maria (40°C-50°C) até a completa solubilização do precipitado. O não cumprimento dos cuidados especiais para correta manipulação das amostras pode invalidar os resultados. Uso exclusivo para pesquisa.

### **18- Referência bibliográfica**

Sambrook, Joseph. Russell, David William. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.

### **19- Atendimento ao consumidor**

SAC (Serviço de Assistência ao Cliente) da Phoneutria Biotecnologia e Serviços através do e-mail **pht@phoneutria.com.br** ou pelo telefone **+55 31 99585-3050 ou +55 31 3427-6413**.

Horário de atendimento: Segunda-feira a Sexta-feira: 08h às 17h

**20- Simbologia Utilizada nos Rótulos**

|   |   |   |  |   |                    |
|---|---|---|--|---|--------------------|
|    | Não reutilizar  |    | Cuidado  |    | Fabricante         |
|    | Consultar as instruções para utilização               |    | Manter em local seco                           |    | Data de Fabricação |
|    | Manter afastado de luz solar<br>Manter longe do calor |    | Não utilizar se a embalagem estiver danificada |    | Data de Validade   |
| <b>REF</b>  | Número de Catálogo                                    |  | Não armazenar acima de 30°C                    | <b>LOT</b>  | Nº de lote         |
| <b>IVD</b>  | Produto de Diagnostico In Vitro                       |  | Risco Biológico                                |  | Inflamável         |
|  | Corrosivo   |  | Tóxico   |  | Perigo             |



**Phoneutria Biotecnologia e Serviços LTDA**

CNPJ: 00.353.885/0001-02

Endereço: Rua Teles de Menezes, 148 - Santa Branca  
Belo Horizonte - Minas Gerais - CEP: 31565-130