



v i v a n t i s

Nucleic Acid Extraction Kit HandBook

GF-1

**VIRAL NUCLEIC ACID
EXTRACTION KIT USER GUIDE
(Version 4.1)**



**FOR DIAGNOSTICS USE &
RESEARCH USE ONLY**

Catalog No.

**SAMPLE: 5 preps
GF-RD-025: 25 preps
GF-RD-050: 50 preps
GF-RD-100: 100 preps
GF-RD-300: 300 preps**

High Yield and Purity

Fast and Easy purification

Reliable and Reproducible

Eluted nucleic acid ready for use in downstream applications

No toxic or organic-based extraction required

Introducción

El kit de extracción de ácido nucleico viral GF-1 está diseñado para la purificación rápida y eficiente de ADN / ARN viral de muestras como suero, plasma, fluido corporal o sobrenadante de cultivo celular infectado con virus. La purificación se basa en el uso de agentes desnaturizantes para proporcionar lisis viral eficiente, desnaturización de proteínas y posterior liberación de ADN o ARN. Los tampones especiales proporcionados en el kit están optimizados para mejorar la unión de ADN o ARN a una membrana de filtro de vidrio especialmente tratada para la recuperación eficiente de ADN o ARN de alta pureza.

Componentes del Kit

Product	5 Preps	25 Preps	50 Preps	100 Preps
Catalog No.	SAMPLE	GF-RD-025	GF-RD-050	GF-RD-100
Components				
GF-1 columns	5	25	50	100
Collection tubes	5	25	50	100
Buffer VL	1.5ml	6ml	12ml	24ml
Wash Buffer 1 (concentrate)*	1.5ml	7ml	14ml	28ml
Wash Buffer 2 (concentrate)*	1.7ml	9ml	17ml	36ml
Carrier RNA*	0.3mg	0.5mg	1mg	2 X 1mg
Elution Buffer	1.5ml	2 x 1.5ml	8ml	20ml
Proteinase K*	0.26ml	1.3ml	2 X 1.3ml	3 X 1.7ml
Handbook	1	1	1	1

* Consulte Reconstitución de soluciones y almacenamiento y estabilidad.

El kit de extracción de ácido nucleico viral GF-1 está disponible en 25, 50 y 100 purificaciones por kit. Los reactivos y materiales provistos con el kit son solo para fines de investigación.

Materiales adicionales que debe suministrar el usuario

Etanol absoluto (> 95%)

Reconstitución de soluciones

La botella etiquetada como Wash Buffer 1 y Wash Buffer 2 contiene un buffer concentrado que debe diluirse con etanol absoluto (> 95%) antes de usar

Para MUESTRA (5 preparaciones),

Agregue 1.5 ml de etanol absoluto en la botella etiquetada Wash Buffer 1.

Agregue 4 ml de etanol absoluto en la botella etiquetada Wash Buffer 2.

Agregue 0.3 ml de tampón de elución al vial de ARN portador y mezcle bien, prepárelo en alícuotas de 15 µl para evitar ciclos repetidos de congelación-descongelación. Almacenar a -20° C.

Para GF-RD-025 (25 preparaciones),

Agregue 7 ml de etanol absoluto en la botella etiquetada como Wash Buffer 1.

Agregue 21 ml de etanol absoluto en la botella etiquetada Wash Buffer 2.

Agregue 0,5 ml de tampón de elución al vial de ARN portador y mezcle bien, prepárelos en alícuotas de 15 µl para evitar ciclos repetidos de congelación-descongelación. Almacenar a -20 ° C.

Para GF-RD-050 (50 preparaciones),

Agregue 14 ml de etanol absoluto en la botella etiquetada como Wash Buffer 1.

Agregue 40 ml de etanol absoluto en la botella etiquetada como Wash Buffer 2.

Agregue 1 ml de tampón de elución al vial de ARN portador y mezcle bien, prepárelo en alícuotas de 15 µl para evitar ciclos repetidos de congelación-descongelación. Almacenar a -20 ° C.

Para GF-RD-100 (100 preparaciones),

Agregue 28 ml de etanol absoluto en la botella etiquetada como Wash Buffer 1.

Agregue 84 ml de etanol absoluto en la botella etiquetada Wash Buffer 2.

Agregue 1 ml de tampón de elución al vial de ARN portador y mezcle bien, prepárelo en alícuotas de 15 µl para evitar ciclos repetidos de congelación-descongelación. Almacenar a -20 ° C.

Guarde el tampón de lavado a temperatura ambiente con la botella bien cerrada después de su uso.

Almacenamiento y Estabilidad

Almacene toda la solución a 20 ° C-30 ° C.

La proteinasa K y el ARN portador son estables hasta 1 año después del parto cuando se almacenan a temperatura ambiente o 4 ° C.

Para prolongar la vida útil de la Proteinasa K y el ADN portador, se recomienda el almacenamiento a -20 ° C. La solución de ARN portador (después de reconstituirse) solo se puede descongelar no más de una vez.

Se garantiza que los componentes del kit serán estables durante 18 meses a partir de la fecha de fabricación. El tampón VL y el tampón de lavado 1 pueden presentar precipitación de sal debido a la temperatura fría. Si esto ocurre, simplemente caliente la botella a 55 ° C - 65 ° C con una mezcla ocasional hasta que se disuelva por completo.

El ARN portador solo puede descongelarse no más de una vez. Cualquier Buffer VL restante que contenga ARN portador solo se puede almacenar a 4 ° C durante no más de una semana.

Peligro químico

Buffer VL y Wash Buffer 1 contienen sales de guanidina que pueden ser dañinas cuando entran en contacto con la piel o se tragan. Siempre use guantes y practique las precauciones de seguridad estándar. NO desinfecte la guanidina o los desechos de extracción en soluciones que contengan lejía o cualquier forma de ácido. Para limpiar cualquier artículo contaminado con el reactivo, simplemente remoje en detergente y agua para eliminar todo rastro de guanidina antes de limpiar con lejía o soluciones ácidas.

Procedimientos

Recordatorio

- Todos los pasos deben llevarse a cabo a temperatura ambiente a menos que se indique lo contrario.
- El tampón de lavado 1 y el tampón de lavado 2 (concentrado) deben diluirse con etanol absoluto antes de su uso. Consulte Reconstitución de soluciones.
- Si se forma precipitación en el tampón VL, incube a 55 ° C - 65 ° C con mezcla ocasional hasta que se disuelva completamente.
- Predefinir el baño de agua a 65 ° C.
- Prepare Buffer VL con Carrier RNA agregando 15 µl de Carrier RNA en 200 µl de Buffer VL por muestra.

1. Muestra de lisis

Agregue 50 µl de proteinasa K a 200 µl de muestra y mezcle bien. Agregue 215 µl de Buffer VL (que contiene ARN portador) y mezcle homogéneamente mediante vórtice pulsado. Incubar a 65 ° C durante 10 min.

2. Adición de etanol

Añadir 280 µl de etanol absoluto. Mezclar inmediata y completamente.

Mezcle inmediatamente para evitar cualquier precipitación desigual de ácido nucleico debido a las altas concentraciones locales de etanol.

3. Cargando a la columna

Transfiera la muestra a una columna ensamblada en el tubo de recolección (provisto). Centrifugar a 5.000 x g durante 1 min. Deseche el filtrado.

4. Columna de lavado 1

Lave la columna con 500 µl de tampón de lavado 1 y centrifugue a 5.000 x g durante 1 minuto. Deseche el filtrado.

Asegúrese de que se haya agregado etanol en el tampón de lavado 1 antes de su uso (consulte Reconstitución de soluciones).

5. Columna de lavado 2

Lave la columna con 500 µl de Wash Buffer 2 y centrifugue a 5,000 x g durante 1 min. Deseche el filtrado. Lave nuevamente la columna con 500 µl de Wash Buffer 2 y centrifugue a la velocidad máxima durante 3 min.

Asegúrese de que se haya agregado etanol al Wash Buffer 2 antes de su uso (consulte Reconstitución de soluciones). Realice la centrifugación durante 3 minutos para eliminar completamente el etanol.

6. Elución de ADN

Coloque la columna en un tubo limpio de microcentrífuga. Añadir 30-50 µl de tampón de elución o agua libre de nucleasas directamente sobre la membrana de la columna y dejar reposar durante 2 min. Centrifugar a 5.000 x g durante 1 minuto para eluir ADN / ARN.

Asegúrese de que el tampón de elución se dispense directamente en el centro de la membrana para una elución completa.

Almacene ADN a 4 ° C a -20 ° C o ARN a -20 ° C a -80 ° C.

Solución de problemas

Tenga en cuenta que al no cumplir con los protocolos recomendados, pueden producirse resultados insatisfactorios relacionados con el rendimiento y la calidad del ARN. Si surgen problemas, consulte lo siguiente:

Problema	Posibilidad	Sugerencias
Baja producción de ADN / ARN	Muestras no frescas o mal almacenadas	La muestra solo se puede descongelar no más de una vez.
	El ARN portador no se agrega al Buffer VL	Prepare Buffer VL con Carrier RNA como se describe en la página de procedimientos.
	Baja calidad de portador de ARN	Asegúrese de que el ARN portador esté en alícuotas y solo pueda descongelarse no más de una vez. Consulte la página 3 para el "Almacenamiento y Estabilidad." Asegúrese de que cualquier precipitado formado en Buffer VL esté completamente disuelto.
	Inhibición ineficaz de nucleasa durante el paso de lisis de muestra	Asegúrese de que Buffer VL se mezcle homogéneamente con la mezcla de muestra y Proteinasa K.
	El etanol no se agrega después lisis de muestra	Repita la purificación con una nueva muestra.
	Wash Buffer 1 y Wash Buffer 2 se reconstituyen incorrectamente	Consulte "Reconstitución de soluciones". Repita la purificación con una nueva muestra.
	La columna no se seca antes de agregar el tampón de elución	Asegúrese de que la columna se centrifuga a la velocidad máxima durante 3 minutos después de la adición de Wash Buffer 2.
Baja producción del ADN / ARN eluido en aplicaciones posteriores	Procese la muestra inmediatamente o si la muestra se almacena para su uso posterior, asegúrese de que la muestra esté descongelada en hielo. Use material de plástico desechable y puntas de pipeta Asegúrese de que la purificación se realice en un entorno libre de	

RNasa.

El ADN / ARN eluido contiene trazas de etanol	Asegúrese de que el paso de secado de la columna se lleve a cabo antes de la elución.
Baja concentración de eluidos ADN / ARN	Reduzca la cantidad de tampón de elución pero no menos de 30 μ l
La cantidad de ARN portador añadido es adecuada	El usuario puede optimizar la cantidad de ARN portador que se agregará

Agregue 50 ul de proteinasa K a 200 ul de muestra y mezcle completamente. Añadir 215 ul de tampón VL (que contiene ARN portador) y mezclar mediante vórtice pulsado, incubar a 65°C, 10 minutos

Adición de etanol
Añadir 280ul de metanol absoluto y mezclar inmediatamente



Cargando a la columna
Traferir muestra a la columna

Centrifugar
Descatar el filtrado

Lavando columna
Adicionar 500ul de Wash Buffer 1

Centrifugar
Descatar el filtrado



Lavando columna
Adicionar 500ul Wash Buffer 2

Centrifugar
Descatar el filtrado

Lavado de columna
Adcionar 500ul Wash Buffer 2

Centrifugar
Descatar el filtrado



Elución
Transfiera la columna a un nuevo tubo de microcentrifuga.
Agregue 30-50ul de tampón de elución o agua. Esperar por 2 min.

Centrifugar
Almacene DNA a 4°C o -20°C
Almacene RNA a -20°C o -80°C

MANUFACTURER

Vivantis Technologies Sdn Bhd
Headquarters
Revongen Corporation Center
Level 17, Top Glove Tower,
No. 16, Persiaran Setia Dagang,
Setia Alam, Seksyen U13, 40170 Shah Alam,
Selangor Darul Ehsan, Malaysia.
Tel: +6 03 3359 1166 Fax: +6 03 3358 0303
Email: info@vivanttechnologies.com
Website: www.vivanttechnologies.com



Manufacturing
I-3A-1, 3Ath Floor, Block I,
Parklane Commercial Hub,
No.21, Jalan SS7/26, Kelana Jaya,
47301 Petaling Jaya,
Selangor Darul Ehsan, Malaysia
Tel: +6 03 7887 3553

EC REP

AUTHORIZED EUROPEAN REPRESENTATIVE

Obelis s.a.
Bd Général Wahis 53
1030 Brussels, Belgium
Tel: +(32)2732-59-54
Fax: +(32)2732-60-03
Email: mail@obelis.net

VIVANTIS GF-1 VIRAL NUCLEIC ACID EXTRACTION KIT
IHCM UNIMAS Protocolo optimizado para muestras de hisopos de COVID

Reconstitución de solución

GF-RD-100

- - Añada 28 ml de etanol absoluto en la botella de Wash Buffer 1
- - Añada 84 ml de etanol absoluto en la botella de Wash Buffer 2
- - Añada 1 ml de tampón de elución en el ARN portador.

GF-RD-300

- - Añada 42 ml de etanol absoluto en la botella de Wash Buffer 1
- - Añada 84 ml de etanol absoluto en la botella de Wash Buffer 2
- - Añada 1,5 ml de tampón de elución en el ARN portador.

Prepare 50 µl de proteinasa K, 200 µl de tampón VL, 15 µl de ARN portador y 10 µl de control interno (paso opcional del kit de RT-PCR en tiempo real) en un tubo estéril de 2 ml.

Agregue 200 µl de muestra de hisopo a la mezcla anterior. Lleve al vortex por 20 segundos.

Incubar los tubos a 72 ° C durante 10 minutos en un baño de agua. Centrifugue brevemente los tubos en una microcentrífuga después del paso de incubación.

Agregue 280 µl de etanol absoluto. Mezclar inmediatamente y completamente Centrifugue brevemente los tubos en una microcentrífuga.

Transfiera 700 µl de muestra a la columna de captura. Centrifugar a 10.000 x g durante 1 min. Desechar el filtrado.

Lavar la columna con 500 µl de Wash Buffer 1. Centrifugar a 10.000 x g durante 1 minuto. Deseche el filtrado.

Lavar la columna con 500 µl de Wash Buffer 2. Centrifugar a 10.000 x g durante 1 min. Desechar el filtrado. Lave la columna nuevamente con 500 µl de Wash Buffer 2. Centrifugar a 10,000 x g durante 2 minutos. Deseche el filtrado.

Coloque la columna de captura (parte superior azul) en un tubo nuevo de 1,5 ml y seque en el horno (800°C) durante 8 minutos. Añada 35 µl de tampón de elución con cuidado en el centro de la columna de captura, deje reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos, centrifugue a 10.000 x g durante 2 minutos. Si no se usa inmediatamente, almacene el eluido a -20 ° C.