



Gato. # DA0640-DA0643

Instrucciones de uso del kit de extracción o purificación de ARN/ADN

[Nombre del producto]

Nombre genérico: Kit de Extracción o Purificación de ARN/ADN

[Número de catálogo y especificaciones del paquete]

Número de catalogo	Especificación del paquete
DA0640	Paquete grande, 20 pruebas/kit
DA0641	Paquete grande, 96 pruebas/kit
DA0642	Preempaquetado, 20 pruebas/kit
DA0643	Preempaquetado, 32 pruebas/kit

[Uso previsto]

Para la extracción, enriquecimiento y purificación de ácido nucleico en muestras. Sus productos procesados son para uso clínico *in vitro* diagnósticos

[Principio de prueba]

El tampón de unión de perlas magnéticas contiene un poderoso desnaturante de proteínas que puede disolver rápidamente las proteínas y disociar los ácidos nucleicos. En su presencia, los ácidos nucleicos liberados pueden unirse a las perlas magnéticas. Luego, las proteínas, los iones de sales inorgánicas y muchas impurezas orgánicas se eliminan con el tampón de lavado de perlas magnéticas 1 y el tampón de lavado de perlas magnéticas 2. Finalmente, los ácidos nucleicos purificados se eluyen con el eluyente.

[Componentes principales]

Paquete grande, 20 pruebas/kit

Nombre del componente	Especificación	Cantidad
Grano magnético	500 µL/tubo	1 tubo
Tampón de digestión	5 ml/vial	1 vial
tampón de lisis	7 ml/vial	1 vial
Amortiguador de unión de perlas magnéticas	5 ml/vial	1 vial
Tampón de lavado de perlas magnéticas 1 (concentrado)	12,3 ml/vial	1 vial
Tampón de lavado de perlas magnéticas 2 (concentrado)	3,5 ml/vial	1 vial
eluyente	3 ml/vial	1 vial
Proteasa K	500 µL/tubo	1 tubo

DaanGene Co., Ltd.

Nombre del archivo: Instrucciones de uso del kit de extracción o purificación de ARN/ADN

Número de archivo: CE-12-003-01

Versión : 1/1

Número de página: 2 / 10

Paquete grande, 96 pruebas/kit

Nombre del componente	Especificación	Cantidad
Grano magnético	2,2 ml/tubo	1 tubo
Tampón de digestión	20 ml/vial	1 vial
tampón de lisis	32,5 ml/vial	1 vial
Amortiguador de unión de perlas magnéticas	20 ml/vial	1 vial
Tampón de lavado de perlas magnéticas 1 (concentrado)	54 ml/vial	1 vial
Tampón de lavado de perlas magnéticas 2 (concentrado)	15 ml/vial	1 vial
eluyente	15 ml/vial	1 vial
Proteasa K	1,1 ml/tubo	2 tubos

Preempaquetado, 20 pruebas/kit

Nombre del componente	Especificación	Cantidad
Placa de 96 pocillos preempaquetada	-	2 piezas
Tampón de digestión	5 ml/vial	1 vial
tampón de lisis	7 ml/vial	1 vial
Amortiguador de unión de perlas magnéticas	5 ml/vial	1 vial
Proteasa K	500 µL/tubo	1 tubo

Preempaquetado, 32 pruebas/kit

Nombre del componente	Especificación	Cantidad
Placa de 96 pocillos preempaquetada	-	2 piezas
Tampón de digestión	7 ml/vial	1 vial
tampón de lisis	11 ml/vial	1 vial
Amortiguador de unión de perlas magnéticas	7 ml/vial	1 vial
Proteasa K	800 µL/tubo	1 tubo

Reactivos necesarios pero no proporcionados: Etanol anhidro

Nota: Los componentes de kits de diferentes modelos y lotes no se utilizarán indistintamente. Si se encuentra algún cristal en el tampón de unión de perlas magnéticas o el tampón de lavado de perlas magnéticas 1 (concentrado) en kits de paquete grande, precaliente el tampón a 58 °C para disolver el cristal por completo antes de usarlo.

[Condiciones de almacenamiento y vida útil]

Almacenar a temperatura ambiente (15°C-25°C), y la vida útil es de 12 meses.

[Instrumentos aplicables]

Instrumento de extracción de ácido nucleico Smart32, Instrumento de extracción de ácido nucleico automático Ballet X3, Instrumento de extracción de ácido nucleico DA3200, Instrumento de extracción de ácido nucleico DA3300, Instrumento de extracción de ácido nucleico DA3500, Kingfisher96 y otros instrumentos similares.

[Requisitos de muestra]

1. Tipos de muestras aplicables: Muestras de sangre entera, muestras de gotas de sangre seca, muestras de tejido y muestras de tejido incluidas en parafina.

2. Colección de muestras

2.1 Muestras de sangre completa: extraiga 2 ml de sangre venosa del sujeto con una jeringa estéril desechable, inyéctela en un tubo de vidrio que contenga EDTA (etilendiaminotetraacetato disódico) o anticoagulante de citrato de sodio y luego invierta el tubo de vidrio inmediatamente 5 a 10 veces para mezclar el anticoagulante con la sangre venosa. Después de eso, selle el tubo y envíelo para su prueba.

2.2 Muestras de gotas de sangre seca: recolecte gotas de sangre capilar en el área designada de una tarjeta de recolección de gotas de sangre seca y envíela para su análisis una vez que esté completamente seca.

2.3 Muestras de tejido: Recoja tejidos frescos o refrigerados.

2.4 Muestras de tejido incluido en parafina: corte de 4 a 10 rebanadas de tejido incluido en parafina, de 10 µm de grosor cada una, según el tamaño del tejido. Si la superficie de las secciones se expone al aire durante demasiado tiempo, se deben desechar las primeras 2 o 3 rebanadas.

3. Almacenamiento y transporte de muestras: Las muestras se pueden usar para realizar pruebas inmediatamente o se pueden almacenar a -20 °C para su uso posterior. La vida útil será la misma que la especificada en el kit de PCR. Las muestras se transportarán en cámaras frigoríficas a 0 °C.

[Uso]

1. Preparación antes del experimento

1.1 Paquete grande: 20 pruebas/kit

1.1.1 Agregue 15 ml de etanol anhidro en el tampón de lavado de microesferas magnéticas 1 (concentrado) y marque la tapa y la pared del vial. Guárdelo a temperatura ambiente (15°C-25°C).

1.1.2 Agregue 10,5 ml de etanol anhidro en el tampón de lavado de microesferas magnéticas 2 (concentrado) y marque la tapa y la pared del vial. Guárdelo a temperatura ambiente (15°C-25°C).

1.2 Paquete grande: 96 pruebas/kit

1.2.1 Agregue 66 ml de etanol anhidro en el tampón de lavado de microesferas magnéticas 1 (concentrado) y marque la tapa y la pared del vial. Guárdelo a temperatura ambiente (15°C-25°C).

1.2.2 Agregue 45 ml de etanol anhidro en el tampón de lavado de microesferas magnéticas 2 (concentrado) y marque la tapa y la pared del vial. Guárdelo a temperatura ambiente (15°C-25°C).

Nota: Se pueden producir sedimentos de cristales si el tampón de lisis y el tampón de lavado de perlas magnéticas 1 se almacenan incorrectamente a baja temperatura. Calentar el tampón en baño tibio a 37°C hasta que desaparezca.

Enrosque bien la tapa del vial después de usar cada reactivo.

2. Extracción de ácido nucleico

2.1 Preprocesamiento de muestras

2.1.1 Preprocesamiento de muestras de gotas de sangre seca

una. Tome de 4 a 6 rebanadas de gotas de sangre seca con un perforador de 3 mm o tome gotas de sangre seca con un área de no menos de 28 mm² utilizando un punzón de otras especificaciones de cada muestra. Colóquelos en un tubo EP esterilizado de 1,5 ml (tenga cuidado con la contaminación cruzada entre diferentes muestras). Agregue 200 µL de Digestion Buffer y 20 µL de Protease K, agite bien e incube a 55°C durante 40 minutos. Durante la incubación, agite en vórtice continuamente (ocasionalmente) para dispersar por completo las manchas de sangre seca, o coloque el tubo de centrifuga en una plataforma oscilante, como un agitador rotatorio.

b. Tome el tubo EP y centrifugue brevemente, luego transfiera el líquido a otro tubo EP nuevo. Agregue 325 µL de Lysis Buffer al tubo EP original, agite bien y luego incube a 65 °C durante 20 minutos, durante los cuales, agite bien 2 o 3 veces.

C. Tome el tubo EP y centrifugue brevemente para recoger el líquido en la pared del tubo. Transfiera el líquido de los tubos EP originales y nuevos al 1^s y 7^o columnas de la placa de 96 pocillos profundos para extracción en el instrumento.

2.1.2 Preprocesamiento de tejidos frescos o refrigerados

una. Tome 25 mg de tejido animal (no más de 10 mg en el caso de tejido de bazo), tritúrelo en pedazos y colóquelo en un Tubo de centrifuga de 1,5 ml. Agregue 200 µL de Digestion Buffer en el tubo.

b. Agregue 20 µL de Protease K, agite bien e incube a 56°C hasta que los tejidos se disocien. Durante la disociación del tejido, agite continuamente (ocasionalmente) para dispersar completamente los tejidos, o coloque el tubo de centrifuga en una plataforma oscilante, como un agitador rotatorio.

C. Transfiera la solución de muestra completamente digerida al 1^s y 7^o columnas de la placa de 96 pocillos profundos.

2.1.3 Preprocesamiento de tejidos incluidos en parafina

una. Recorte el exceso de parafina alrededor de los tejidos incluidos en parafina con un bisturí.

b. Corte de 4 a 10 rebanadas de tejidos embebidos en parafina, de 10 µm de espesor cada una, según el tamaño del tejido. Si la superficie de las secciones se expone al aire durante demasiado tiempo, se deben desechar las primeras 2 o 3 rebanadas.

C. Coloque las secciones de tejido incrustadas en parafina cortadas en un tubo eppendorf de 1,5 ml que haya sido etiquetado y agregue 1 ml de xileno. Apriete la tapa y agite bien durante 10 segundos en un agitador de vórtice.

d. Centrifugar a máxima velocidad durante 2 minutos. Todo el experimento debe realizarse a temperatura ambiente (15°C-25°C).

mi. Después de la centrifugación, utilice una pipeta para extraer y desechar la solución de xileno en la parte superior que ha disuelto la parafina. Durante la operación, tenga cuidado de no desechar los tejidos deseados en la parte inferior.

F. Agregue 1 ml de alcohol anhidro del 96 % al 100 % y vuelva a agitar bien con el agitador vórtice. El propósito es disolver completamente el xileno residual en los tejidos con alcohol.

gramo. Centrifugar a máxima velocidad durante 2 minutos a temperatura ambiente (15°C-25°C).

H. Use una pipeta para extraer y desechar la solución de alcohol en la parte superior que ha disuelto el xileno. Durante la operación, se debe usar una punta de pipeta pequeña y tener cuidado de no quitar los tejidos lavados en la parte inferior.

i. Abra la tapa del tubo eppendorf a temperatura ambiente (15°C-25°C) y déjelo reposar hasta que se evapore todo el alcohol residual.

j. Agregue 200 µL de tampón de digestión y 20 µL de proteasa K, incube a 55 °C durante 60 minutos y luego transfíralo a una nueva incubadora durante otros 60 minutos a 90 °C. Después de la incubación, transfiera el líquido al 1^s y 7^o columnas de la placa de 96 pocillos profundos.

3. Operación del instrumento de extracción de ácido nucleico Smart32

3.1 Paquete grande, 20 pruebas/kit o 96 pruebas/kit

3.1.1 Preparación de placas de pocillos profundos

Un instrumento de extracción de ácido nucleico Smart32 puede procesar dos placas de 96 pocillos profundos en un experimento, y una placa de 96 pocillos profundos puede cargar 16 muestras a la vez para la extracción.

- ① De acuerdo con el tamaño de la muestra para la extracción, agregue 600 µL de Magnetic Bead Wash Buffer 1 al 3^{er}, 4^{er}, 9^{er}, y 10^{er} columnas de la placa de 96 pocillos profundos;
- ② De acuerdo con el tamaño de la muestra para la extracción, agregue 600 µL de Magnetic Bead Wash Buffer 2 al 5^{er} y 11^{er} columnas de la placa de 96 pocillos profundos;
- ③ De acuerdo con el tamaño de la muestra para la extracción, agregue 100 µL de Eluyente a los 6^{er} y 12^{er} columnas de las 96 profundas buen plato;
- ④ Según el tamaño de la muestra para la extracción, agregue 20 µL de Magnetic Beads, 20 µL de Protease K (para la extracción usando solo muestras de sangre completa), líquido preprocesado o 200 µL de sangre completa y 325 µL de tampón de lisis (no se requiere para la extracción usando muestras de gotas de sangre seca) al 1^{er} y 7^{er} columnas de la placa de 96 pocillos profundos en secuencia.
- ⑤ El tercer paso en el procedimiento de extracción del Smart32 es el procedimiento de pausa. Durante este procedimiento, abra el instrumento y agregue 200 µL de tampón de unión de perlas magnéticas al 1^{er} y 7^{er} columnas antes de continuar con el siguiente paso.

Nota: 1. Mezcle bien las perlas magnéticas antes de agregarlas a las columnas. Si el tamaño de la muestra es grande, se recomienda volver a mezclar las perlas magnéticas una vez cada vez que haya terminado de agregarlas en 8 pocillos de muestra.

2. Los 2^{da} y 8^{er} columnas deben dejarse vacías, ya que no están involucradas en los procedimientos de extracción.

3.1.2 Configuración del programa

Paso	Bien Localización	Nombre del programa	Esperando Hora (min)	mezclando Hora (min)	Magnético Absorción Veces	mezclando Velocidad	Volumen (µL)	La temperatura Estado	La temperatura (°C)
1	2	transferencia de Perlas Magnéticas	0	1	2	Rápido	400	Apagar	0
2	1	lisis	0	15	0	Rápido	500	primero bien	70
3									
4	1	Vinculante	0	5	3	Rápido	750	primero bien	70
5	3	el 1 ^{er} Lavado	0	3	3	Rápido	600	Apagar	0
6	4	El 2 ^{da} del Norte Lavado	0	2	2	Rápido	600	Apagar	0
7	5	Los 3 ^{er} Lavado	0	2	2	Rápido	600	Apagar	0
8	6	elución	5	0	0	Medio	100	Sexto pozo	50
9	6	elución	0	5	0	Medio	100	Sexto pozo	70
10	6	Absorbiendo de Perlas Magnéticas	0	0	7	Medio	100	Apagar	0
11	3	descarte de Perlas Magnéticas	0	1	0	Medio	600	Apagar	0

Después de completar el procedimiento, el líquido en los 6^{er} y 12^{er} columnas es la solución de ácido nucleico. Se recomienda usarlo inmediatamente. De lo contrario, transfíralo a un tubo de centrifuga estéril y guárdelo a -20°C±5°C.

3.2 Preenvasado, 20 pruebas/kit

3.2.1 Preparación de la placa de pocillos profundos

① Tome la placa de 96 pocillos profundos del kit preempaquetado, inviértala varias veces para mezclarla bien. Agítelo suavemente para concentrar los reactivos y las bolas magnéticas en el fondo de la placa (o centrifugar en una centrífuga de placa de 96 pocillos a 500 rpm durante 1 minuto). Retire con cuidado la película de sellado durante el uso para evitar que se derrame el líquido.

② Agregue el líquido preprocesado o 200 µL de sangre entera, 20 µL de Proteasa K (para la extracción usando sangre entera solo muestras) y 325 µL de tampón de lisis (no necesario para la extracción con muestras de gotas de sangre seca) al 1^s y 7^e columnas de la placa de 96 pocillos profundos (Filas A–E).

③ El tercer paso en el procedimiento de extracción del Smart32 es el procedimiento de pausa. Durante este procedimiento, abra el instrumento y agregue 200 µL de tampón de unión de perlas magnéticas al 1^s y 7^e columnas antes de continuar con el siguiente paso.

3.3.2 Configuración del programa: Igual que para el paquete grande

Después de completar los procedimientos, el líquido en los 6^e y 12^e columnas es la solución de ácido nucleico. Se recomienda usarlo inmediatamente o almacenarlo a -20°C±5°C.

3.3 Preenvasado, 32 pruebas/kit

3.3.1 Preparación de la placa de pocillos profundos

① Tome la placa de 96 pocillos profundos del kit preempaquetado, inviértala varias veces para mezclarla bien. Agítelo suavemente para concentrar los reactivos y las bolas magnéticas en el fondo de la placa (o centrifugar en una centrífuga de placa de 96 pocillos a 500 rpm durante 1 minuto). Retire con cuidado la película de sellado durante el uso para evitar que se derrame el líquido.

② Agregue el líquido preprocesado o 200 µL de sangre entera, 20 µL de Proteasa K (para la extracción usando sangre entera solo muestras) y 325 µL de tampón de lisis (no necesario para la extracción con muestras de gotas de sangre seca) al 1^s y 7^e columnas de la placa de 96 pocillos profundos (Filas A–H).

③ El tercer paso en el procedimiento de extracción del Smart32 es el procedimiento de pausa. Durante este procedimiento, abra la puerta y agregue 200 µL de tampón de unión de perlas magnéticas al 1^s y 7^e columnas antes de continuar con el siguiente paso.

3.3.2 Configuración del programa: Igual que para el paquete grande

Después de completar los procedimientos, el líquido en los 6^e y 12^e columnas es la solución de ácido nucleico. Se recomienda usarlo inmediatamente o transferirlo a un tubo de centrífuga estéril y almacenarlo a -20°C±5°C.

[Limitaciones del producto]

La eficiencia de la extracción de muestras depende de los métodos de recolección y almacenamiento de muestras, así como de si el operador sigue estrictamente las Instrucciones de uso. Pueden producirse resultados falsos positivos si las muestras no se manipulan correctamente.

[Características de presentación]

1. Las características de rendimiento del kit pueden alcanzar las de sus contrapartes en el país y en el extranjero.
2. Se puede utilizar para la extracción de ácidos nucleicos de diferentes tipos de muestras. Se puede lograr una mejor eficiencia de extracción cuando la concentración de la muestra es baja.
3. El kit presenta una buena repetibilidad, con un CV dentro de lote y un CV entre lotes inferior al 5 %.

[Advertencias y precauciones]

1. Por favor, lea el *Instrucciones de uso* cuidadosamente antes de la prueba. El producto debe ser utilizado por profesionales de laboratorio/sanitarios.
2. **Para diferentes modelos de instrumentos de extracción de ácido nucleico, es posible que se requieran diferentes configuraciones de programa debido a las diferencias en el hardware.** Para conocer la configuración detallada de los parámetros, consulte a Daan Gene Co., Ltd.
3. Para evitar cualquier peligro biológico potencial en las muestras, las muestras de ensayo se considerarán sustancias infecciosas y se evitará el contacto con la piel y las mucosas. Se recomienda que las muestras se procesen en una cabina de bioseguridad que impida la salida de aerosoles. Los tubos de ensayo y las puntas de pipeta que se utilicen en el área de preparación de muestras se colocarán en un recipiente que contenga desinfectantes y se esterilizarán junto con los desechos médicos antes de desecharlos. La manipulación y eliminación de las muestras debe realizarse de acuerdo con las reglamentaciones pertinentes.
4. Los componentes del kit deben usarse dentro de la vida útil, y los experimentos sin usar los componentes proporcionados en el kit pueden dar lugar a resultados erróneos. No lo use si el paquete está dañado y consulte las Instrucciones de uso. 5. El laboratorio se gestionará en estricta conformidad con las prácticas de gestión de los laboratorios de amplificación génica por PCR y proporcionará formación profesional al personal del laboratorio. Cada procedimiento experimental debe llevarse a cabo estrictamente en áreas divididas (incluyendo el área de preparación de reactivos, el área de preparación de muestras y el área de amplificación y análisis de productos). Todos los consumibles se esterilizarán para un solo uso. Cada etapa del experimento deberá estar equipada con instrumentos y equipos dedicados. No se permite el uso cruzado de materiales de cada área en cada etapa.
6. Se utilizarán puntas y tubos de centrifuga desechables esterilizados en autoclave o se comprarán puntas y tubos de centrifuga libres de ADNasa y ARNasa.
7. Una vez completada la extracción del ácido nucleico, se recomienda pasar inmediatamente al siguiente experimento o almacenar el ácido nucleico extraído a -20 °C para su uso posterior (dentro de las 24 h).
8. Después del experimento, la mesa de laboratorio y las pipetas deben desinfectarse con ácido hipocloroso al 10 % o alcohol al 75 % e irradiarse con luz ultravioleta durante 20 a 30 minutos.
9. Aviso al usuario: cualquier incidencia grave que se haya producido en relación con el producto se comunicará al fabricante ya la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.

[Referencias]

1. Vogelstein B, y otros. Purificación preparativa y analítica de ADN a partir de agarosa. *Proc Natl Acad Sci*, 1979, 76 (2), 615-619.

2. Damas de esquivo, *y otros*. Un método de detección, amplificación y extracción de ácido nucleico de un solo tubo utilizando óxido de aluminio. *Revista de Diagnóstico Molecular*, 2003, 8(1), 16-21.

3. Grieg F, *y otros*. Extracción y purificación de ácidos nucleicos de virus. *Capítulo MAVE*, 2010, 154-165.

[Explicación de los símbolos]

	Utilizar por fecha		<i>No reutilizar</i>
	<i>Código de lote</i>		Marcado CE
	Fecha de manufactura		Precaución
	Fabricante		Autorizado Europeo Representante
	<i>Número de catalogo</i>		Consultar <i>instrucciones de uso</i>
	Límite de temperatura		Biológico <i>riesgos</i>
	Contiene suficiente para <norte> pruebas		Mantener alejado de la luz solar
	Diagnóstico in vitro <i>dispositivo médico</i>		<i>Importador</i>
	No lo use si el paquete está dañado y consulte <i>instrucciones de uso</i>		Mantener seco

[Información básica]



Nombre de empresa:Daan Gene Co., Ltd.

Dirección del fabricante:No. 19, Xiangshan Road, Science Park, High & New Technology Development District, Guangzhou, Guangdong, PR China

Dirección de producción:No. 19, Xiangshan Road, Science Park, High & New Technology Development District, Guangzhou, Guangdong, PR China; No. 6, Lizhishan Road, Science Park, High & New Technology Development District, Guangzhou, Guangdong, PR China

Código postal:510665

Teléfono:+86-4000000340/ +86-20-32290789

Fax:+86-20-32068820

Sitio web:<http://www.daangene.com>



Nombre de empresa:Lotus NL BV

Dirección:Koningin Julianaplein 10, 1e Verd, 2595AA, La Haya, Países Bajos

Correo electrónico:peter@lotusnl.com

[Fecha de revisión y aprobación de la instrucción]28 de septiembre de 2022

DaanGene Co., Ltd.

Nombre del archivo: Instrucciones de uso del kit de extracción o purificación de ARN/ADN

Número de archivo: CE-12-003-01

Versión : 1/1

Número de página: 10 / 10

[Registros de revisión]

No.	Resumen de revisión	Fecha de aprobación
1	1. El número de archivo y el número de versión se cambiaron debido al cambio de los documentos de procedimiento relevantes del SGC. 2. Se corrigieron los errores tipográficos de traducción.	28 de septiembre de 2022