



Cat.# DA0590-DA0591

Instrucciones de uso del kit de purificación de ARN/ADN (columna giratoria)

[Nombre del producto]

Nombre genérico: Kit de purificación de ARN/ADN (columna giratoria)

[Número de catálogo y especificaciones del paquete]

Número de catálogo	Especificación del paquete
DA0590	20 pruebas/equipo
DA0591	48 pruebas/equipo

[Uso previsto]

Este kit se utiliza para la extracción, enriquecimiento, purificación, etc. de ácido nucleico. Los productos procesados por el kit se utilizan para fines clínicos. *in vitro* propósitos de diagnóstico.

[Principio de prueba]

Lysis Buffer contiene un fuerte desnaturante de proteínas, que puede disolver rápidamente las proteínas y hacer que el ácido nucleico se disocie; bajo la existencia de tampón de lisis y alcohol etílico, las composiciones de ácido nucleico disociado se pueden combinar en la membrana de silicón; luego, mediante las acciones del eliminador de inhibidores y la solución desionizada, elimine la proteína, los iones de sal inorgánica y muchas impurezas orgánicas. Luego use Eluyente para eluir el ácido nucleico puro.

[Componentes principales]

20 pruebas/equipo

Nombre del componente	Especificación	Cantidad
Columna giratoria	20/bolsa	1 bolsa
tubo de recogida	80/bolsa	1 bolsa
tampón de lisis	4,4 ml/vial	1 vial
Eliminador de inhibidores (concentrado)	7 ml/vial	1 vial
Solución desionizada (concentrada)	4,4 ml/vial	1 vial
Diluyente	3 ml/vial	1 vial
Proteínasa K	1,2 ml/vial	1 vial
ARN portador (polvo seco)	155 µg/tubo	1 tubo

48 pruebas/equipo

Nombre del componente	Especificación	Cantidad
Columna giratoria	48/bolsa	1 bolsa
tubo de recogida	96/bolsa	2 bolsas
tampón de lisis	11 ml/vial	1 vial
Eliminador de inhibidores (concentrado)	16,5 ml/vial	1 vial
Solución desionizada (concentrada)	11 ml/vial	1 vial
eluyente	6 ml/vial	1 vial
Proteinasas K	2,7 ml/vial	1 vial
ARN portador (polvo seco)	155 µg/tubo	2 tubos

Reactivos requeridos pero no provistos: Etanol anhidro.

[Condiciones de almacenamiento y vida útil]

Conservar a temperatura ambiente (15°C-25°C) y válido durante 12 meses.

El ARN transportador debe almacenarse a -20 °C ± 5 °C después de la disolución; debe evitarse la congelación y descongelación repetidas.

El resto de componentes del kit deben conservarse a temperatura ambiente (15°C-25°C).

Consulte la etiqueta del producto para conocer la fecha de fabricación y la fecha de caducidad del reactivo.

[Instrumento aplicable] Máquina centrífuga hasta 12.000g.

[Requisitos de muestras]

1. Tipos de muestras aplicables: Suero, plasma, células exfoliadas cervicales, frotis faríngeo, secreciones nasofaríngeas.

2. Recogida de muestras

2.1 Suero: Extraiga 2 mL de sangre venosa del sujeto con una jeringa estéril desechable, inyéctela en un tubo de vidrio seco y estéril, coloque el tubo a temperatura ambiente (15°C-25°C) durante 30-60 minutos para esperar que el suero esté completamente y se aglutina espontáneamente y se separa de la muestra de sangre, o se centrifuga directamente con una centrífuga horizontal a 1500 g durante 5 minutos. Extraiga el suero superior y transfíralo a un tubo de centrífuga estéril de 1,5 ml.

2.2 Plasma: con una jeringa estéril desechable, extraiga 2 ml de sangre venosa del sujeto, inyéctela en un tubo de vidrio con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético disódico) o anticoagulante de citrato de sodio, inmediatamente invierta suavemente el tubo de vidrio de 5 a 10 veces, haciendo que el anticoagulante y la sangre venosa se mezclen lo suficiente, después de 5-10 minutos se puede aislar el plasma, transfiriéndolo a un tubo de centrífuga de esterilización de 1,5 ml.

2.3 Para tratamientos en muestras de frotis de garganta, secreciones nasofaríngeas, consulte el esquema de monitoreo y el esquema de técnicas de detección sobre la materia detectada correspondiente emitida por el Ministerio de Salud.

2.4 Para la recolección de muestras de células cervicales exfoliadas, en primer lugar, el personal médico usa un espéculo vaginal para exponer el cuello uterino, coloca el cepillo cervical en la boca cervical, gira en el sentido de las agujas del reloj durante 4-6 vueltas para obtener suficientes células epiteliales, luego saca el cepillo cervical y colócalo en un pequeño tubo estéril que contiene 2 ml de solución salina normal.

3. Almacenamiento y transporte de muestras: La muestra se puede aplicar inmediatamente a la prueba, también se puede almacenar a -20°C

para las pruebas. El período de almacenamiento será el mismo que el especificado en el kit de PCR. Las muestras se entregarán en hieleras a 0°C.

[Uso]

1. Preparación antes del experimento

1.1 20 pruebas/equipo

1.1.1 Agregue 4,3 ml de etanol anhidro en el eliminador de inhibidores (concentrado) y marque la tapa y la pared del tubo. Conservar a temperatura ambiente (15°C-25°C).

1.1.2 Agregue 17,6 ml de etanol anhidro en solución desionizada (concentrada) y marque la tapa y la pared del tubo. Conservar a temperatura ambiente (15°C-25°C).

1.1.3 Agregue 110 µL de Eluyente o solución de control interno (composición en el kit de PCR) en Carrier RNA (Polvo seco), mezclado suficiente, disuelto. Almacenado a -20°C±5°C. **(Dado que el ARN portador es materia blanca o translúcida, verifique**

cuidadosamente para asegurarse de que se disuelva por completo)

1.2 48 pruebas/equipo

1.2.1 Agregue 10 ml de etanol anhidro en el eliminador de inhibidores (concentrado) y marque la tapa y la pared del tubo. Conservar a temperatura ambiente (15°C-25°C).

1.2.2 Agregue 44 ml de etanol anhidro en solución desionizada (concentrada) y marque la tapa y la pared del tubo. Conservar a temperatura ambiente (15°C-25°C).

1.2.3 Agregue 110 µL de Eluyente o solución de control interno (composición en el kit de PCR) en Carrier RNA (Dry Powder), suficiente mezcla, disuelta. Almacenado a -20°C±5°C. **(Dado que el ARN portador es materia blanca o translúcida, verifique**

cuidadosamente para asegurarse de que se disuelva por completo)

1.3 Mezcla de tampón de lisis y ARN transportador

Antes de realizar la prueba, Lysis Buffer debe mezclarse con Carrier RNA (que se organiza y utiliza inmediatamente) para configurarlo en la solución de trabajo de lisis. Sus proporciones se muestran en la siguiente tabla:

	1 prueba	20 pruebas	24 pruebas	48 pruebas
tampón de lisis	200 l	4ml	4,8 ml	9,6 ml
ARN transportador	4 l	80 l	96 l	192 l

Nota:una. Si el Lysis Buffer y el Inhibitor Remove se colocan incorrectamente a baja temperatura, puede aparecer una precipitación cristalina. Incubar a 37°C hasta que desaparezca la precipitación; después del uso de cada reactivo, apriete la tapa. b. Si se proporciona una solución de control interno en el reactivo de detección de PCR, use dicha solución de control interno para disolver el ARN portador (polvo seco). Si no hay una solución de control interno en el reactivo de detección de PCR, use eluyente para disolver el ARN portador (polvo seco).

2. Tratamiento de muestras y extracción de ácidos nucleicos

2.1. Tratamiento de muestras líquidas

2.1.1 Agregue 50 µL de proteinasa K en un tubo de centrifuga estéril de 1,5 mL.

2.1.2 Tome una muestra de 200 µL y agréguela al tubo de centrifuga.

2.1.3 Agregue 200 µL de solución de trabajo de lisis (es decir, solución de lisis que contiene ARN portador), ajuste la tapa del tubo, oscile en vórtice durante 15 segundos para mezclar la solución lo suficiente, luego realice **centrifugación de alta velocidad durante 10 segundos** (evitar burbujas producidas durante el período de incubación), 10 minutos a temperatura 72°C, al mismo tiempo, precalentar el eluyente a temperatura 72°C.

2.1.4 Agregue 250 µL de etanol, apriete la tapa del tubo. Oscile en vórtice durante 15 segundos.

2.1.5 Introduzca toda la mezcla en la Spin Column, realice una centrifugación de 12 000 g durante 1 minuto a temperatura ambiente (15 °C-25 °C), luego coloque la Spin Column en un tubo de recolección nuevo.

2.1.6 Agregue 500 µL de eliminador de inhibidores en la columna de centrifugación, realice una centrifugación de 12 000 g durante 1 minuto a temperatura ambiente (15 °C-25 °C) y luego coloque la columna de centrifugación en un tubo de recolección nuevo.

2.1.7 Agregue 500 µL de solución desionizada a la columna de centrifugación, realice una centrifugación de 12 000 g durante 1 minuto a temperatura ambiente (15 °C-25 °C), luego coloque la columna de centrifugación en un nuevo tubo de recolección.

2.1.8 Agregue 500 µL de solución desionizada en la columna de centrifugación una vez más, realice una centrifugación de 12 000 g durante 1 minuto a temperatura ambiente (15 °C-25 °C) y luego coloque la columna de centrifugación en un nuevo tubo de recolección.

2.1.9 Coloque la columna de centrifugación y el tubo de recolección a temperatura ambiente (15°C-25°C), realice una centrifugación de 14 000 g durante 3 minutos para eliminar el etanol residual.

2.1.10 Saque la Spin Column, colóquela en un nuevo tubo de centrifuga de 1,5 mL. Abra la tapa de Spin Column, **dejar reposar durante 2 minutos a una temperatura de 72°C** (use un termostato seco, no use un hervidor de baño de agua).

2.1.11 Añada con cuidado 50 µL de eluyente precalentado a 72 °C justo encima de la membrana de la columna giratoria, apriete la tapa del tubo después de reposar durante 1 minuto a temperatura ambiente (15 °C-25 °C), realice una centrifugación de 14 000 g durante 1 minuto. Luego, la solución en el tubo de centrifuga es una solución de ácido nucleico. Es mejor usarlo inmediatamente, si desea conservarlo, guárdelo a una temperatura de -20°C.

2.2 Tratamiento en muestras tipo hisopo, como el hisopo de garganta

Las muestras como el cepillo cervical, el hisopo faríngeo, etc. deben agitarse por completo en la solución de transporte (conservación) (al menos 40 veces) para eluir las células adheridas a los hisopos, luego tomar 1-1,5 ml de solución conservante en un tubo de centrifuga de 1,5 ml y realice una centrifugación a 12 000 g durante 3 minutos para eliminar la mayor parte del sobrenadante, reserve unos 200 µL de líquido con suficiente mezcla y los procesos posteriores son como operaciones en *2.1 Tratamiento de muestras líquidas*.

[Limitaciones del producto]

La eficiencia de extracción de muestras está relacionada con si el operador cumple estrictamente con las instrucciones de uso. Si no se controla bien la contaminación cruzada en el procesamiento de la muestra, se puede producir un resultado falso positivo.

[Indicadores de desempeño]

Tomando pseudovirus artificial PSV como muestra analizada, el uso de este producto puede alcanzar los mismos indicadores de rendimiento con un reactivo similar (Rocher High Pure Viral Nucleic Acid Kit).

[Precauciones]

1. Lea atentamente las Instrucciones de uso antes de experimentar. El producto debe ser utilizado por profesionales de laboratorio/sanitarios.
2. Para evitar cualquier peligro biológico potencial en la muestra, se considerará que la muestra analizada contiene sustancias infecciosas, evite el contacto con la piel y las mucosas. Al realizar el tratamiento de la muestra en un gabinete de bioseguridad que puede evitar la salida de niebla aérea, los tubos de ensayo y las puntas utilizadas en el área de preparación de la muestra deben arrojar al recipiente con desinfectante y pueden desecharse después de esterilizarse con desechos. Tanto la operación como el tratamiento de la muestra se ajustarán a los requisitos de las leyes y reglamentos pertinentes.
3. Los componentes del kit se utilizarán dentro del período de validez; realizar experimentos sin utilizar los componentes suministrados por este kit podría dar lugar a resultados erróneos. No lo use si el paquete está dañado y consulte las Instrucciones de uso.
4. La gestión del laboratorio deberá estar estrictamente de acuerdo con la práctica de gestión del laboratorio de amplificación génica por PCR, el personal del laboratorio deberá recibir capacitación profesional. Los procedimientos experimentales se realizarán bajo particiones estrictas (área de preparación de reactivos, área de preparación de muestras, área de amplificación y análisis de productos). Todos los consumibles se esterilizarán para un solo uso. Se utilizarán instrumentos y equipos especiales en cada etapa del experimento. No se permitirá la utilización cruzada de los suministros de cada área en cada etapa.
5. Utilice tubos y puntas de centrifuga desechables después de la esterilización en autoclave o compre tubos y puntas de centrifuga sin enzima de ARN.
6. Después de completar la extracción del ácido nucleico de la muestra, se sugiere realizar el siguiente experimento inmediatamente; de lo contrario, almacene la muestra a -20 °C para su uso (dentro de las 24 horas).
7. Después del experimento, la mesa de trabajo y la pipeta se tratarán primero con hipoclorito al 10 % o alcohol al 75 % y luego se expondrán a la luz ultravioleta durante 20 a 30 minutos.
8. 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.*et al.*Purificación preparativa y analítica de ADN a partir de agarosa.*Proc Natl Acad Sci*, 1979, 76 (2), 615-619.
2. Mackay MI*et al.*Ensayos moleculares para la detección de metapneumovirus humano.*Diario de Microbiología Clínica*, 2003, 41(1), 100-105.
3. Greenberger Set *al.*Terapia génica controlada por transcripción contra la angiogénesis tumoral.*J Clin invest*, 2004, 113 (7), 1017-1024.

DaanGene Co., Ltd.

Nombre del archivo: Instrucciones de uso del kit de purificación de ARN/ADN (columna giratoria)

Número de archivo: CE-02-003-01

Versión: 1/1

Número de página: 6 / 8

[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 catálogo</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

DaanGene Co., Ltd.

Nombre del archivo: Instrucciones de uso del kit de purificación de ARN/ADN (columna giratoria)

Número de archivo: CE-02-003-01

Versión: 1/1

Número de página: 7 / 8

[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

[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