



PCRun®

Sample Prep Cat.N.30PRE308

RNA Extração Kit 8 amostras CINOMOSE

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O PCRun® RNA Sample Prep destina-se à extração de RNA de amostras frescas recentemente coletadas de sangue total (EDTA) / creme leucocitário, urina, swabs de faringe, nasais e conjuntivais em aproximadamente 5 minutos. Protocolos para extração de várias amostras podem ser encontrados neste manual.

PRINCÍPIO

O PCRun® RNA Sample Prep é baseado na tecnologia Zymo Research, que envolve lise de células, adesão a uma membrana seletiva, remoção de inibidores com solução de lavagem e eluição do RNA.

ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

- Temperatura ambiente (21-25°C).
- Evite a exposição à luz solar direta.
- Não use além da data de validade indicada no rótulo da embalagem.
- Não congele ou exponha a temperaturas extremas.

EQUIPAMENTO E REAGENTE NECESSÁRIOS, MAS NÃO INCLUÍDOS NESTE KIT

- Micropipetas laboratoriais;
- Ponteiros com barreira de aerossóis (de 20 µL a 1000 µL);
- Microcentrífuga adequada para tubos tipo *Eppendorf* que alcance uma velocidade de **10.000 x g** (para transformar *g* em *rpm*, veja na tabela anexada).
- Luvas descartáveis;
- Marcador permanente de ponta fina;
- Para amostras de swab: tesoura estéril ou bisturi;
- Solução salina fisiológica estéril.

PRECAUÇÕES

- O manuseio e o uso adequados de materiais livres de RNase eliminarão a degradação do RNA e a introdução de RNases.
- Realize a extração de RNA em uma área separada da área usada para o preparo da reação PCRun.
- Sempre empregue pipetadores e ponteiros com barreira livres de RNase ao trabalhar com RNA.
- Luvas de laboratório descartáveis limpas devem ser usadas durante a execução do procedimento de extração.
- Não use o kit se algum dos componentes estiver danificado.
- Cada componente deste kit é adequado para uso apenas com um número de lote específico. Não misture componentes de diferentes números de lote.
- Use procedimentos laboratoriais aceitos para trabalhar com RNA.
- Todos os resíduos moleculares devem ser descartados em recipientes adequados de risco biológico.
- O RNA extraído deve ser utilizado o mais breve possível, mas pode ser conservado por 24 horas a 4°C, por duas semanas a -20°C ou por um período mais prolongado a -70°C.

COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS

Para obter os melhores resultados, recomendam-se amostras adquiridas recentemente. Se não forem processadas logo após a colheita, as amostras podem ser mantidas a 4°C por até 24 horas ou -70°C por um período maior. Para obter informações adicionais sobre coleta e manutenção de amostras, consulte "Método de Coleta e Armazenamento de Amostras" anexado.

COMPONENTES DO KIT

Componentes	Quantidade
Frasco contendo tampão de RNA viral	1 frasco / 8 ml
Frasco contendo tampão de lavagem viral	1 frasco / 4,5 ml
Frasco contendo tampão de eluição de RNA	1 frasco para injetáveis / 0,2 ml
Colunas Zymo Spin IC	8
Tubos para coleta	16
Tubos tipo <i>Eppendorf</i> de 1,5 mL	8
Tubo de microcentrífuga de 2 mL	8
Instruções de uso	1

A. Protocolo Geral

O protocolo geral não contém volumes exatos nas instruções. Ele é projetado para permitir que o usuário modifique o método de extração de acordo com os volumes e tipos de amostra potenciais. Para obter instruções específicas sobre sangue, creme leucocitário, swabs e urina, consulte as seções B e D abaixo. Consulte as Instruções Rápidas que acompanham o kit para obter uma explicação ilustrada de cada etapa.

1. Coloque a amostra no **tubo de microcentrifuga de 2 mL** fornecido com o kit.
2. Adicione 3 volumes de **tampão de RNA viral** à amostra e misture bem com agitador vórtex ou agitação cuidadosa.
3. Coloque uma coluna **Zymo-Spin™ IC** em um **tubo coletor**. Rotule a tampa da coluna claramente com o código da amostra.
4. Transfira a amostra para a coluna **Zymo-Spin™ IC** no **tubo de coleta** e centrifugue por 1 minuto a uma velocidade de 10.000 x g. Certifique-se de que toda a amostra atravessou o filtro e seguiu para o **tubo de coleta**. **Se os restos da amostra permanecerem na coluna, repita a centrifugação.**
5. Coloque a **coluna Zymo-Spin IC** em um novo **tubo de coleta** (fornecido com o kit). Descarte o tubo de coleta usado e seu conteúdo em um recipiente adequado para risco biológico.
6. Adicione 500 µL do **tampão de lavagem viral** à coluna e centrifugue por 2 minutos. **Observe se todo o volume do tampão passou pela coluna. Se o tampão ainda estiver visível na coluna, repita a etapa de centrifugação.**
7. Transfira cuidadosamente a coluna (evitando o contato com o conteúdo do tubo de coleta) para um tubo Eppendorf de 1,5 mL fornecido com o kit. Descarte o **tubo de coleta** com seu conteúdo em um recipiente de risco biológico. Rotule a tampa do Eppendorf claramente com o código de amostra.
8. Adicione 20 µL do **tampão de eluição de RNA** diretamente no centro da coluna.
9. Centrifugue por aproximadamente a 10.000g por 30 segundos. Feche imediatamente o tubo e coloque no gelo.
10. O RNA extraído deve ser utilizado o mais breve possível, mas pode ser conservado por 24 horas a 4°C, por duas semanas a -20°C ou por um período mais prolongado a -70°C.

B. Protocolo para Creme Leucocitário ou Sangue Total

O protocolo é projetado para o isolamento de RNA viral de 200 µL de sangue total não coagulado coletado em EDTA ou da fração de creme leucocitário isolada de uma amostra de sangue total. Se o volume da amostra for inferior a 200 µL, adicione solução salina fisiológica à amostra para atingir o volume alvo.

1. Adicione a amostra em um tubo de microcentrifuga de 2 mL (200 µL - sangue total ou creme leucocitário isolado com soro fisiológico).
2. Adicione 600 µL de tampão de RNA viral à amostra e misture bem.
3. Continue a partir da etapa 3 do Protocolo Geral visto acima.

C. Protocolo para swabs conjuntivais, faríngeos profundos e nasais profundos

1. Adicione 600 µL de **tampão de RNA viral** e 200 µL de solução salina fisiológica em um **tubo de microcentrifuga de 2 mL** fornecido com este kit.
2. Usando uma tesoura estéril ou bisturi descartável, corte a ponta do cotonete no tubo de microcentrifuga e misture vigorosamente. Esterilize o instrumento de corte após o uso.
3. Coloque uma **coluna Zymo-Spin™ IC** em um **tubo de coleta**. Rotule a tampa da coluna claramente com o código de amostra.
4. Remova cuidadosamente o **tampão de RNA viral/mistura** de amostra do tubo de microcentrifuga e transfira-o para a **coluna Zymo-Spin™ IC** no tubo de coleta. Centrifugue por 1 minuto a uma velocidade de 10.000 x g. Certifique-se de que toda a amostra passou pelo filtro para o **tubo de coleta**. Se ainda houver resquícios da amostra permanecendo na coluna, repita a centrifugação.
5. Continue a partir da etapa 5 do **Protocolo Geral** acima.

D. Protocolo para Amostras de Urina

1. Adicione 900 µL do **tampão de RNA viral** e 300 µL de amostra de urina em um tubo de **microcentrifuga de 2 mL** fornecido com este kit e misture bem por vórtice ou agitação vigorosa.
2. Coloque uma **coluna Zymo-Spin™ IC** em um **tubo de coleta** e rotule claramente com o código de amostra.
3. Transfira metade da mistura tampão/urina do tubo de microcentrifuga para a **coluna Zymo-Spin™ IC** no **tubo de coleta** e centrifugue por 1 minuto a uma velocidade de 10.000 x g. Certifique-se de que toda a amostra passou pelo filtro para o tubo de coleta. Se ainda houver resquícios da amostra permanecendo na coluna, repita a centrifugação.
4. Descarte o tubo em um recipiente de risco biológico e recolocar a coluna no **tubo coletor**.
5. Repita a etapa 3 deste protocolo com o restante da amostra.
6. Continue a partir da etapa 5 do **Protocolo Geral** acima.

Apêndice:

Transformando **g** (Força Centrífuga Relativa) em **RPM** (Rotações Por Minuto):

$$G = (1,118 \times 10^{-5}) \times r \times \text{RPM}^2$$

Por extenso: Força Centrífuga Relativa = (1,118 vezes 10⁻⁵) vezes o raio do rotor vezes (Rotação Por Minuto)²

Em anexo Tabela com a conversão de xg para RPM



Fabricante: Biogal Galed Labs. Acs. Ltd.
FAX: +972 (0)4 9898690 E-mail: info@biogal.com
www.biogal.com Kibbutz Galed, 1924000 - Israel



Representante Exclusivo no Brasil, Importador e Distribuidor:

JMR TRADING LTDA / VPDIAGNÓSTICO: CNPJ: 11.857.347/0001-71
Rua Mandaguari, 1752 - Pinhais - Paraná-Brasil
Fone (41) 3434-2721 e-mail: info@vpdiagnostico.com.br
Resp. Tec.: Dra. Margareth Carvalho S. Agottani CRMV-PR nº 3288
PRODUTO PARA USO VETERINÁRIO – NÃO NECESSITA DE REGISTRO