

[Nombre de producto]

Kit de Extracción de Ácidos Nucleicos (método de perlas magnéticas)

[Código de producto]

A-100, A-200; B-100, B-200; T-200

[Especificaciones de empaquetado]

Nº Catálogo	Tamaño	Nº Catálogo	Tamaño
A100-32	32 T/Kit	B100-32	32 T/Kit
A100-96	96 T/Kit	B200-8	8 T/Kit
A200-32	32 T/Kit	B200-16	16 T/Kit
A200-96	96 T/Kit	B200-32	32 T/Kit
B100-8	8 T/Kit	T200-32	32 T/Kit
B100-16	16 T/Kit	T200-96	96 T/Kit

[Destino]

Para la extracción, enriquecimiento y purificación de ácidos nucleicos (ADN/ARN) en muestras. Los productos obtenidos son para uso en diagnóstico clínico in vitro.

[Fundamentos del test]

Las perlas magnéticas del kit presentan grupos poliméricos específicos en su superficie que adsorben ácidos nucleicos (ADN/ARN). En condiciones especiales (hipersalinas) las células o virus de las muestras se lisan y liberan rápidamente sus ácidos nucleicos, que se adsorben específicamente a las perlas magnéticas. Los ácidos nucleicos de las perlas se separan de la fase líquida utilizando un separador magnético. Las impurezas residuales y los inhibidores en la fase líquida se remueven por el lavado con el reactivo de extracción II. Finalmente, los ácidos nucleicos se liberan de las perlas magnéticas modificando las condiciones de la fase líquida, separándolos de manera rápida y eficiente.

[Componentes principales]

Tabla 1 Componentes principales de A-100/A-200

Constituyentes del kit	A-100		A-200		Componentes principales
	32 T/Kit	96 T/Kit	32 T/Kit	96 T/Kit	
Reactivo de extracción I	8 mL x1 botella	24 mL x1 botella	8 mL x2 botella	48 mL x1 botella	<50% Guanidinium Isothiocyanate, <10% Buffer Tris, <50% Dimethyl carbino
Reactivo de extracción II	14.4 mL x1 botella	43.2 mL x1 botella	9.6 mL x2 botella	60 mL x1 botella	<10% Buffer Tris, <10% NaCl
Buffer de elución	6.4 mL x1 botella	19.2 mL x1 botella	6.4 mL x1 botella	19.2 mL x1 botella	Agua desionizada
Solución de perlas magnéticas	64 µL x1 tubo	192 µL x1 tubo	128 µL x1 tubo	480 µL x1 tubo	<50% perlas magnéticas
Proteinasa K	320 µL x1 tubo	960 µL x1 tubo	480 µL x1 tubo	1440 µL x1 tubo	<5% Proteinasa K
Soluciones para el equipo	/	12 mL x1 botella	/	24 mL x1 botella	<20% Aceite mineral

Tabla 2 Componentes principales de B-100/B-200

Constituyentes del Kit	B-100			B-200			Componentes principales
	8 T/Kit	16 T/Kit	32 T/Kit	8 T/Kit	16 T/Kit	32 T/Kit	
Proteinasa K	80 µL x1 tubo	160 µL x1 tubo	320 µL x1 tubo	120 µL x1 tubo	240 µL x1 tubo	480 µL x1 tubo	< 5% Proteinasa K
Reactivo de extracción de ácidos nucleicos precargado en placa de 96 pocillos	4 T x2 placas	8 T x2 placas	16 T x2 placas	4 T x2 placas	8 T x2 placas	16 T x2 placas	Reactivo de extracción 1, reactivo de extracción 2, buffer de elución, solución de perlas magnéticas

Tabla 3 Componentes principales de T-200

Constituyentes del Kit	32 T/Kit	96 T/Kit	Notas
Reactivo de extracción I	32 T x1 placa	96 T x1 placa	Aplicable al equipo automático de extracción de ácidos nucleicos.
Reactivo de extracción II	32 T x1 placa	96 T x1 placa	
Buffer de elución	32 T x1 placa	96 T x1 placa	
Solución de perlas magnéticas	32 T x1 placa	96 T x1 placa	
Proteinasa K	480 µL x1 tubo	1440 µL x1 tubo	

[Almacenamiento y validez]

1. Almacenar a 2~8 °C por 12 meses, protegiéndolo de la luz solar directa y la humedad.
2. Almacenar a temperatura ambiente por 60 días una vez abierto.

[Instrumentos aplicables]

1. Operación manual: separador magnético, centrifuga, baño seco.
2. Sistema de extracción de ácidos nucleicos: sistema automático o semiautomático de extracción de ácidos nucleicos basado en el principio de absorción de perlas magnéticas.

[Requerimientos de las muestras]

1. Tipos de muestras: muestras líquidas como suero, plasma, hisopados nasofaríngeos, fluidos de preservación celular, fluidos de tejidos, orina y secreciones.
2. Recolección de la muestra: recolección por métodos de rutina.
3. Preservación y transporte de la muestra: Las muestras recolectadas pueden ser utilizadas inmediatamente para la extracción de ADN o almacenadas a 2-8°C (menos de 24 horas), a -20°C para preservación de largos periodos de tiempo. Evitar ciclos de congelado-descongelado. Se recomienda que las muestras se transporten en un recipiente refrigerado sellado o una caja de espuma de poliestireno con sello de hielo.

[Metodología del test]

1. Operación Manual (Se muestra el A-200 como ejemplo, figura 1)

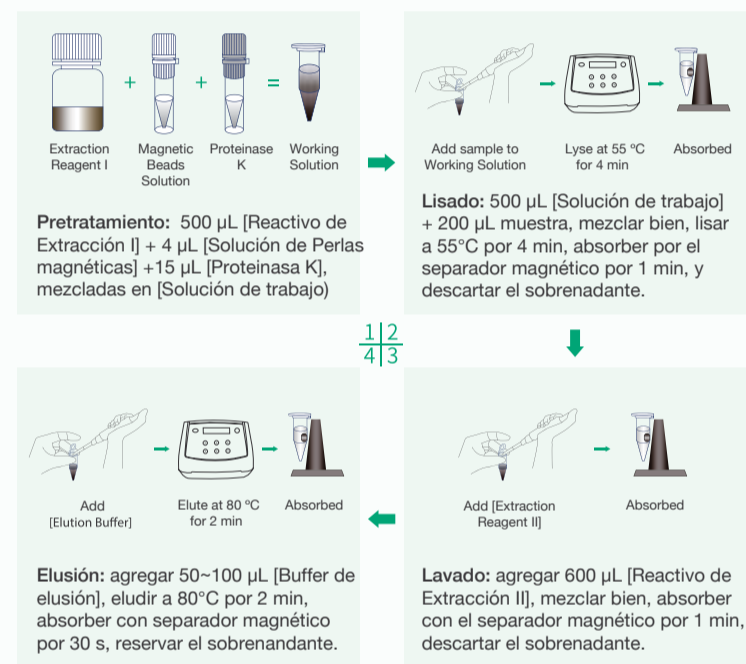
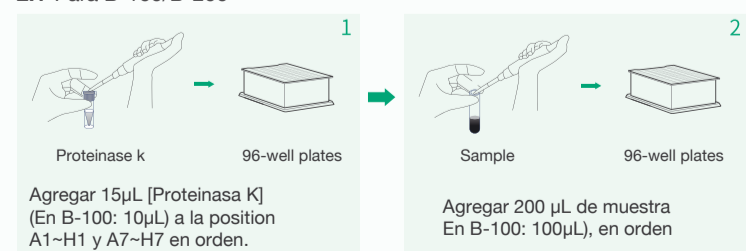


Figura 1 Operación Manual de A-200

- 1.1 Sacar todos los componentes del kit, mantenerlos a temperatura ambiente y mezclarlos bien antes de usar. Si hay una pequeña cantidad de cristales en el (Reactivo de Extracción I), el reactivo no puede ser usado hasta su disolución completa.
- 1.2 500 µL (Reactivo de Extracción I) + 4 µL [Solución de Perlas Magnéticas] + 15 µL [Proteinasa K] = Solución de trabajo/T (En A-100: 250 µL [Reactivo de Extracción I] + 2 µL [Solución de Perlas Magnéticas] + 10 µL [Proteinasa K] = Solución de trabajo/T). Agregar los reactivos y las soluciones proporcionalmente y mezclarlas correctamente. (Nota: la Solución de trabajo debe usarse dentro de los 30 minutos).
- 1.3 Agregar 500 µL de [Solución de Trabajo] y 200 µL de muestra a un tubo de centrifuga de 15 ml, rotulado. Agitar y mezclar por 5 s y calentar por 4 min en un baño seco a 55°C (En A-100: 250 µL [Solución de trabajo] + 100 µL muestra).
- 1.4 Centrifugar el tubo por 5 s y colocar en el separador magnético por 1 min, luego descartar el sobrenadante (Nota: tratar de no tocar las perlas magnéticas en la pared del tubo cuando descarte el sobrenadante).
- 1.5 Agregar 600 µL [Reactivo de Extracción II] (En A-100: Agregar 450 µL [Reactivo de Extracción II]), tapar y mezclar bien por 5 s, centrifugar y colocar en el separador magnético por 1 min, luego descartar el sobrenadante. (Nota: tratar de no tocar las perlas magnéticas en la pared del tubo cuando descarte el sobrenadante).
- 1.6 Remover el líquido residual en el fondo del tubo (luego de 1 min de decantación del tubo en posición vertical).
- 1.7 Agregar 50~100 µL [Buffer de Elución], tapar, agitar y mezclar bien por 5 s y un corto giro en centrifuga (spin).
- 1.8 Colocar el tubo de centrifuga en un baño seco a 80°C y calentar por 2 minutos.
- 1.9 Colocar el tubo de centrifuga en el separador magnético, sacar y conservar el sobrenadante para el experimento posterior.
2. Operación del Sistema semiautomático de extracción de ácidos nucleicos.
- 2.1 Para B-100/B-200



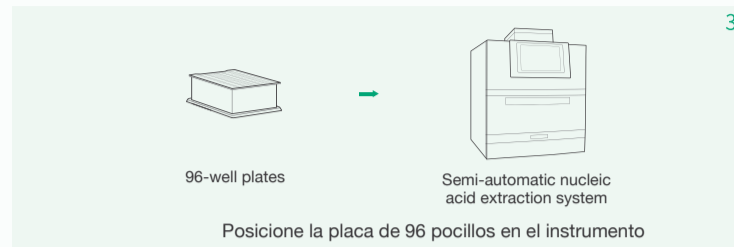


Figura 2 Operación semiautomática de B-200

- 2.1.1 Sacar los componentes del Kit y mantenerlos a temperatura ambiente hasta su uso. Vierta el líquido que se adhiere a la cubierta de aluminio y a la pared del pocillo de la placa de 96 pocillos, al fondo de la placa. Dejar reposar por 3-5 min.
- 2.1.2 Abrir cuidadosamente la cubierta de aluminio de la placa de 96 pocillos y agregar 15 µL [Proteinasa K] (En B-100: 10 µL) en la posición A1~H1 y A7~H7 en orden. Luego, agregar 200 µL de muestra (En B-100: 100 µL), en orden.
- 2.1.3 Encender el Sistema de Extracción de ácidos nucleicos, entrar en la página < Program Edit > y configure el proceso de extracción de acuerdo con la tabla 4.

Tabla 4 Configuración del programa en ejecución

No.	Posición	Nombre	Tiempo de espera (min)	Tiempo de mezcla (min)	Tiempo de absorción de perlas magnéticas (seg)	Velocidad de mezcla	Volumen	Estado de Temperatura	Temperatura °C
1	2	Remove	0	0	30	Baja	150	Cerrado	0
2	1	Lisis	0	4	60	Baja	500	Calentando para Lisis	55
3	3	Lavado	0	1	60	Baja	600	Cerrado	0
4	6	Elución	0	2	30	Baja	50	Calentando para Elución	80
5	1	Remove	0	0	0	Baja	300	Cerrado	0

(Nota: Los parámetros de volumen se configuran se establecen de acuerdo con el efecto de extracción real, pueden no ser los mismos con los volúmenes de reactivo.)

2.1.4 Clickear "Start" para comenzar a correr el programa de extracción. El proceso tarda cerca de 10 min.

2.1.5 Sacar la placa de 96 pocillos y pipetear la solución de ácidos nucleicos de inventario desde la posición A6-H6 y A12-H12, colocar en un tubo de centrifuga de 1.5 mL para las siguientes operaciones. (Se puede eliminar una pequeña cantidad de perlas magnéticas mediante una centrifuga o un separador magnético).

2.2 Para T-200:

2.2.1 Preparación: Cable de datos, computadora, Programa de extracción, Kit de extracción de ácidos nucleicos (T-200)

2.2.2 Conectar el instrumento y la computadora, luego, importar el programa de extracción: Home- Connet- Transfer...- Upload- Chose the program- Change the name "zhong.yuan" to "zhongyuan" (remove "."), importarlo a la carpeta.

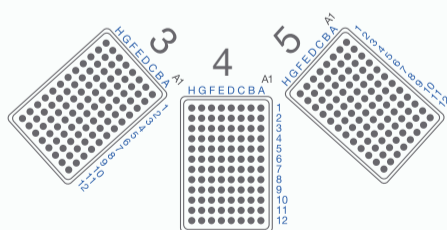
2.2.3 Agregar 15 µL [proteínasa K] y 200 µL de muestra al [reactivo de Extracción I].

2.2.4 Operación del Equipo:

Elegir el programa de extracción "zhongyuan"- click "Start"- Cargar los reactivos según indicaciones:

- Colocar la placa de [buffer de elución] en posición 4
- Colocar la placa de [reactivo de extracción II] en posición 3
- Colocar la placa de [reactivo de Extracción I] en posición 2
- Colocar la placa de [Solución de perlas magnéticas] en posición 1

Luego, colocar el manguito de varilla magnética en la placa [Solución de perlas magnéticas]. Nota: La ubicación de las placas de 96 pocillos es como se muestra a continuación:



Una vez finalizada la ejecución, saque la placa de 96 pocillos correspondiente, placa [Buffer de elución] para el experimento posterior, de acuerdo con la indicación del instrumento.

3. Operación del Sistema automático de extracción de ácidos nucleicos.

3.1 Sacar todos los componentes del kit, mantenerlos a temperatura ambiente y mezclarlos bien antes de usar. Si hay una pequeña cantidad de cristales en el (Reactivo de Extracción I), el reactivo no puede ser usado hasta su disolución completa.

3.2 Consulte el manual de operación y el Estándar de operación del sistema automático de extracción de ácido nucleico para completar la extracción de ácido nucleico.

Limitaciones de la Metodología del Test

Este producto necesita ser utilizado con un separador magnético de operación manual.

Índice de Rendimiento de Producto

1. Tasa de recuperación: ≥90%.
2. El analito extraído se puede utilizar directamente en experimentos de biología molecular como PCR.

Ej.: el kit extrajo 200 µL de material de referencia del VHB de la OMS (código NIBSC: 10/264) diluido (10 UI / ml) para obtener 50 µL de analito. El analito fue detectado por el kit de detección del VHB 10 veces. La tasa positiva fue del 100%, como se muestra en la Figura 2-1. Ej.: El kit extrajo 200 µL de material de referencia del VHC (5° Estandar Internacional de la OMS para NAT de VHC, código NIBSC: 14/150) diluido (25 UI / ml) para obtener 50 µL de analito. El analito fue detectado por el kit de detección de VHC 10 veces. La tasa positiva fue del 100%, como se muestra en la Figura 2-2. Ej.: ADN de Pseudoviridae a una concentración de 5 × 10⁸ UI / mL se diluyó con suero negativo a 5 × 10⁷ UI / mL, 5 × 10⁶ UI / mL, 5 × 10⁵ UI / mL, 5 × 10⁴ UI / mL, 5 × 10³ UI / mL, 5 × 10² UI / mL y 50 UI / mL, se extrajeron con el kit y se detectaron los analitos, los resultados se muestran en la Figura 2-3; Ej.: El ARN de Pseudoviridae a una concentración de 5 × 10⁷ UI / mL se diluyó con suero negativo a 5 × 10⁶ UI / mL, 5 × 10⁵ UI / mL, 5 × 10⁴ UI / mL, 5 × 10³ UI / mL, 5 × 10² UI / mL y 50 UI / mL, se extrajeron con el kit y se detectaron los analitos, los resultados se muestran en la Figura 2-4.

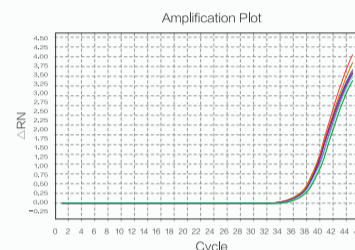


Figura 2.1 Curva de amplificación de material de referencia de VHB (10 UI/ml)

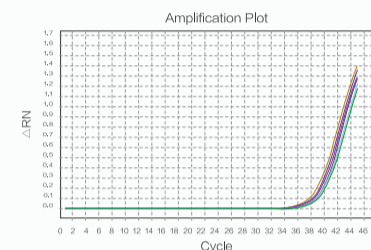


Figura 2.2 Curva de amplificación de material de referencia de VHC (25 UI/ml)

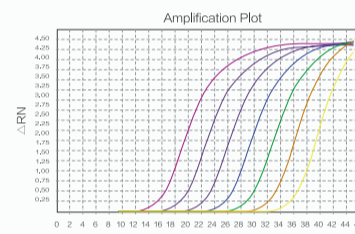


Figura 2.3 Curva de amplificación de ADN de Pseudoviridae

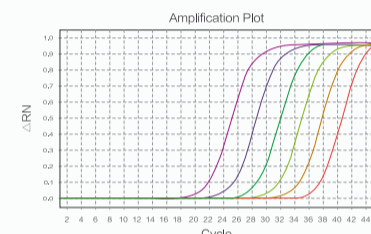


Figura 2.4 Curva de amplificación de ARN de Pseudoviridae

Figura 2 Curva de amplificación por PCR de extracto

Advertencias y precauciones

1. Los componentes del kit deben mezclarse bien antes de su uso. Si hay una pequeña cantidad de cristales en el [Reactivo de extracción I], el reactivo no se puede usar hasta que este completamente disuelto.
2. Evite los ciclos de congelación-descongelación en la muestra, mezcle bien antes de usar. De lo contrario, la concentración de ADN / ARN extraído disminuirá.
3. Teniendo en cuenta que el [Reactivo de extracción I] contiene componentes inflamables, manténgalo alejado de fuentes de fuego u otros factores de riesgo.
4. La eliminación de los líquidos residuales debe realizarse de acuerdo con las normativas y regulaciones locales.

Referencias

1. Tang Y J, Zou J, Ma C, et al. Highly Sensitive and Rapid Detection of Pseudomonas aeruginosa Based on Magnetic Enrichment and Magnetic Separation. Theranostics, 2013, 3(2):85-92.
2. Shain E B, Clemens J M. A new method for robust quantitative and qualitative analysis of real-time PCR. Nucleic acids Res, 2008, 36(14):57- 63.
3. Li J M. Real-time Fluorescent PCR Technology [M] . Beijing: People's Military Medical Press, 2007.

Significado de los símbolos

Símbolo	Significado	Símbolo	Significado
	DISPOSITIVO PARA DIAGNÓSTICO MÉDICO IN VITRO		CONSULTE INSTRUCCIONES DE USO
	CÓDIGO DE LOTE		FECHA DE VENCIMIENTO
	NÚMERO DE CATÁLOGO		LÍMITE DE TEMPERATURA
	FABRICANTE		CONFORMIDAD EUROPEA
	REPRESENTANTE AUTORIZADO EN LA COMUNIDAD EUROPEA		