Extração magnética de RNA

Código: 13-BR500-25
250 Extrações
Protocolo de Extração de RNA
Transporte: 10-30°C
Recomenda-se temperatura entre 2-8°C assim que receber
NCM 38220090

Reagentes fornecidos:

Beads magnéticos – Magnetic Beads. 13-BR505
Tampão de lise – Lysis Buffer. 13-BR501
Tampão de ligação – Binding Buffer. 13-BR502
Tampão de lavagem – Washing Buffer. 13-BR503
Tampão de Eluição – Elution Buffer. 13-BR504

Observação importante: Vortexar as amostras naso-faríngeas, antes de proceder ao ensaio, para promover a liberação das células contendo vírus do swab na solução do tubo de coleta.

Em um micro tubo Eppendorf de 1,7 mL, adicionar 150 mL de Lysis Buffer e 250 mL de Isopropanol para cada 300 mL de amostra clínica.

Observação: para aumentar a eficiência da extração pode ser adicionado no primeiro tubo 20 mL de Proteinase K na concentração de 20mg/mL (incubação por 65°C durante 10 minutos) e prosseguir com o protocolo. Alternativamente utilizar 10 mL de b-mercaptoetanol puro e prosseguir com o protocolo.

Com auxílio de micropipeta adicionar 50 mL das beads magnéticas para cada tubo com amostras e Lysis Buffer.

Misturar com auxílio do vortex para promover homogeneização das amostras e as beads.

Posicionar o microtubo na rack magnética e deixar repousando, para promover a captura das beads no ímã da rack, durante 5 minutos.

Após este período de tempo e com auxílio de micropipeta, aspirar completamente o líquido evitando contato com os Magnetic Beads.

Adicionar 300 mL de Binding Buffer, pipetar up-and-down por 5 segundos e agitar fora da rack magnética, deixar repousar o tubo na rack durante 1 minuto.

Com o microtubo na rack magnética retirar o líquido sem ter contato com as beads (estas devem estar no lado do imã).

Adicionar 400 mL de Washing Buffer e repetir o procedimento de lavagem por mais uma vez repetindo como nas etapas 6 e 7.

Depois de feitas estas lavagens, observar a retirada total do líquido, evitando o contato com as beads, retirar todo o excesso de Washing Buffer com auxílio de micropipeta e ponteira fina, deixando o mais seco possível.

Com o microtubo na rack magnética, aguardar por 5 minutos a evaporação total dos líquidos residuais. Observação: não deixar mais do que o tempo recomendado, pois as beads poderão ficar aderidas entre si, favorecendo uma perda de rendimento para a etapa posterior.

No tubo contendo as beads e já sem resíduos de líquido, adicionar 50 mL do Elution Buffer e proceder com o movimento de up-and-down com a micropipeta e o tubo fora da Rack magnética, voltar para a rack e deixar a solução no mínimo por 1 minuto, após este tempo proceder à retirada do líquido, onde estará o RNA extraído.

Transferir o líquido para um novo microtubo. Utilizar o conteúdo imediatamente ou armazenar em -80°C até sua utilização. Esta temperatura favorece a estabilidade do RNA extraído.