

BioFast Reagente de extração rápida de DNA

Referência: BRF01R100

Reagente para extração rápida de DNA de culturas bacterianas em meio líquido ou sólido.
100 mL

O reagente BioFast (Reagente de extração rápida de DNA) é um produto que contém todos os reagentes necessários para a extração de DNA a partir de culturas bacterianas em meio líquido ou sólido. O reagente fornece um ambiente de pH estável que é favorável para a estabilidade do DNA, contém substâncias que ajudam a inibir a atividade de nucleases, protegendo o DNA contra a degradação enzimática, e ajudam a preservar a integridade do material genético durante o armazenamento a longo prazo em temperaturas baixas de -20°C ou -80°C. A extração de DNA por lise térmica é um método simples e eficaz para liberar o material genético das células. O processo envolve a quebra das membranas celulares por meio do calor, seguido pela liberação e isolamento do DNA.

Composição do reagente

Componente	Composição	Quantidade
BioFast	Mistura otimizada de compostos inorgânicos para extração térmica de DNA bacteriano.	1 tubo; 100mL

Condições de Armazenamento

- Este produto é transportado a temperatura ambiente, não afetando o desempenho do produto.
- Mantenha o reagente protegido da luz, em local arejado e entre 15°C e 30°C.

Informações de segurança

- Quando trabalhar com produtos químicos use jaleco, luvas e óculos de proteção adequados.
- Todos os resíduos de amostra e os objetos que estiveram em contato com os mesmos devem ser descontaminados ou eliminados como material potencialmente infeccioso.
- Pode causar irritação na pele e olhos. Em caso de acidente, lavar em água corrente.

Equipamentos e insumos que devem ser fornecidos pelo usuário

- Equipamentos:** Micropipetas calibradas de volume variável (0,5µL a 1000µL), centrífuga de tubos, homogeneizador de tubos tipo *vortex*, raque para microtubos e termobloco, banho-maria ou termociclador.
- Insumos:** Ponteiras com barreira, microtubos e luvas de procedimento sem talco.

Avisos e precauções

- Não utilizar se a embalagem estiver danificada.
- Evitar a exposição à luz.
- Não utilizar o reagente após a data de validade.
- Não misturar os reagentes de diferentes lotes.
- Utilizar plásticos livres de nucleases.
- Todas as instruções devem ser lidas antes de realizar o teste e estritamente seguidas.

Suporte técnico

Para maiores informações e assistência técnica, entre em contato com o Suporte Técnico pelo e-mail biorise@biorise.com.br, site biorise.com.br ou telefone (45) 99858-0038.

Histórico de revisões

Manual de uso	Data	Versão	Modificações
MU-EXF001	03/2024	V01	Primeira versão

Nota: pequenas alterações tipográficas, gramaticais e de formatação não são incluídas no histórico de revisões.

Procedimento de Uso

A. Extração de DNA bacteriano

Para a extração rápida do DNA de culturas bacterianas em diferentes matrizes utilizando o reagente BioFast, siga as recomendações descritas na tabela abaixo.

Tipo de amostra	Procedimento
Amostra enriquecida em meio de cultura líquido ¹	<ol style="list-style-type: none"> 1. Realize o procedimento de enriquecimento da amostra estabelecido em seu laboratório. 2. Adicione 500 µL da amostra enriquecida em meio de cultura líquido¹ em um microtubo de 1,5 mL. 3. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm. 4. Descarte o sobrenadante com o auxílio de uma micropipeta sem mover o <i>pellet</i> bacteriano formado no fundo do microtubo. 5. Adicione 200 µL do reagente BioFast ao microtubo contendo o <i>pellet</i> bacteriano. 6. Dissolva o <i>pellet</i> com o auxílio de um agitador <i>vortex</i>. 7. Incube a 95°C por 10 minutos. 8. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm. 9. Utilize o sobrenadante como amostra para a reação de PCR e/ou transfira para um novo microtubo para ser armazenado à -20°C ou -80°C.
Bactéria isolada crescida em meio de cultura líquido ¹ (cultura <i>overnight</i>)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Realize o procedimento de cultivo bacteriano estabelecido em seu laboratório. 2. Adicione 200 µL do reagente BioFast em um microtubo. 3. Adicione 20 µL do cultivo bacteriano crescido em meio de cultura líquido¹ ao microtubo contendo o reagente. 4. Agite a mistura em agitador <i>vortex</i>. 5. Incube a 95°C por 10 minutos. 6. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm. 7. Utilize o sobrenadante como amostra para a reação de PCR e/ou transfira para um novo microtubo para ser armazenado à -20°C ou -80°C.
Suspensão bacteriana em tampão ²	<ol style="list-style-type: none"> 1. Adicione 1 mL da suspensão bacteriana em tampão² em um microtubo de 1,5 mL. 2. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm. 3. Descarte o sobrenadante com o auxílio de uma micropipeta sem mover o <i>pellet</i> bacteriano formado no fundo do microtubo. 4. Adicione 200 µL do reagente BioFast ao microtubo contendo o <i>pellet</i> bacteriano. 5. Dissolva o <i>pellet</i> com o auxílio de um agitador <i>vortex</i>. 6. Incube a 95°C por 10 minutos. 7. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm. 8. Utilize o sobrenadante como amostra para a reação de PCR e/ou transfira para um novo microtubo para ser armazenado à -20°C ou -80°C.

Cultura bacteriana em meio de cultura sólido	<ol style="list-style-type: none"> 1. Adicione 500 µL do reagente BioFast em um microtubo. 2. Com o auxílio de um suabe estéril colete as colônias bacterianas crescidas sobre a placa e adicione a ponta do suabe ao microtubo contendo o reagente. 3. Agite a mistura em agitador <i>vortex</i>. 4. Transfira 200 µL para um novo microtubo. 5. Incube a 95°C por 10 minutos. 6. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm. 7. Utilize o sobrenadante como amostra para a reação de PCR e/ou transfira para um novo microtubo para ser armazenado à -20°C ou -80°C.
Colônia bacteriana isolada em meio de cultura sólido	<ol style="list-style-type: none"> 1. Adicione 200 µL do reagente BioFast em um microtubo. 2. Com o auxílio de uma haste estéril colete as colônias e adicione-as ao microtubo contendo o reagente. 3. Agite a mistura em agitador <i>vortex</i>. 4. Incube a 95°C por 10 minutos. 5. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm. 6. Utilize o sobrenadante como amostra para a reação de PCR e/ou transfira para um novo microtubo para ser armazenado à -20°C ou -80°C.

¹ Os meios de cultura líquido em que o procedimento foi validado são os meios BHI (*Brain Heart Infusion*) e Água peptonada.

² Os tampões em que o procedimento foi validado são os tampões PBS (solução salina tamponada com fosfato), tampão salino e tampão TE (Tris-EDTA).

Observação 1: Outras matrizes, meios de cultura e tampões não descritos neste manual devem ser testados e validados antes da utilização deste método de extração de DNA para fins de pesquisa e diagnóstico.

Observação 2: É recomendado testar o limite de detecção de cada ensaio de PCR utilizando este método de extração de DNA nas diferentes matrizes analisadas em seu laboratório.

