

# Tecnologias para Extração e Purificação de Ácidos Nucleicos





# Soluções de extração e purificação de ácidos nucleicos da LGC, Biosearch Technologies

A Biosearch Technologies é única no mercado de extração e purificação de ácidos nucleicos, porque tanto somos provedores de serviços quanto desenvolvedores de reagentes e instrumentos.

Desenvolvemos reagentes e instrumentação para uso no laboratório dos clientes, e são estes mesmos produtos que usamos em cada um de nossos laboratórios de serviços. Isso permite que a Biosearch Technologies seja altamente flexível e ofereça soluções individuais para cada um de nossos clientes.

Para fornecer o método de extração ou purificação mais eficiente e eficaz, oferecemos não apenas uma gama de tecnologias diferentes, mas também a capacidade de desenvolver sistemas de kit customizados para todas as aplicações e exigências subsequentes.

Nossa gama de tecnologias permite a entrega de extrações e purificações otimizadas provenientes de um conjunto incomparável de amostras incluindo:

- Material vegetal (incluindo folhas, sementes e outras matrizes vegetais)
- Amostras de gado (incluindo sangue, tecido animal, folículos pilosos, swabs bucais e saliva)
- Amostras humanas (incluindo sangue, tecido e amostras forenses)
- Preparações de plasmídeo
- Bactérias, procariotos e outros micro-organismos

- Reagentes para Extração de DNA

  QuickExtract
- 4 a 6 Reagentes para Purificação de DNA
  Purificações com qualidade para PCR Kleargene
  Purificações com qualidade para NGS sbeadex
  (planta, pecuária, sangue)
  - Reagentes para Purificação de DNA/RNA/ácido nucleico total MasterPure
  - 8 Automação
  - 9 Serviços de purificação
    Serviços de purificação de DNA
    Serviços de purificação de RNA
  - 1 Visão geral
  - 1 Informações para pedido



Reagentes para Extração de DNA

#### QuickExtract

Para análise de DNA e aplicações de genotipagem, um DNA genômico com qualidade para PCR é suficiente, o qual pode ser extraído de forma rápida e eficiente com a solução QuickExtract™ DNA. Em 3 a 8 minutos, e com o uso de apenas um protocolo em um tubo único, o DNA genômico com qualidade para PCR pode ser extraído, de quase qualquer tipo de amostra, sem o uso de centrifugas ou colunas de centrifugação (Figura 1).



Aquecer a 65 °C por 6 minutos e 98 °C por 2 minutos



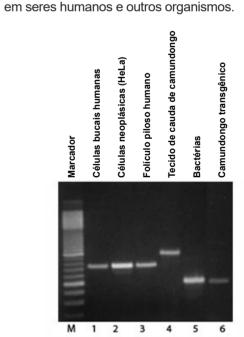
Figura 1: Procedimento para obter DNA pronto para PCR com o uso da Solução de Extração de DNA QuickExtract DNA.

A variedade de Soluções QuickExtract para outros tipos de amostras inclui:

- Solução de Extração de DNA QuickExtract DNA
- Solução de Extração de DNA QuickExtract FFPE
- Solução de Extração de DNA QuickExtract Plant
- Solução de Extração de RNA QuickExtract RNA

Figura 2: Amostras extraídas com Solução de Extração de DNA QuickExtract DNA. A PCR foi realizada com o uso de iniciadores para amplificar as regiões indicadas: Colunas 1 3, 8-globina humana; coluna 4, GAPDH de camundongo transgênico; coluna 5, gene de RNA ribossômico de E. coli 16S; coluna 6, antígeno SV40 T transgênico.





para análises de PCR (Figura 2), a partir de DNA

genômico, transgênico ou DNA viral em animais,

ou para pesquisa genética ou ambiental e análise

2

## Reagentes para Purificação de DNA

## Purificações de DNA com qualidade para PCR

### Kleargene

A química de purificação Kleargene utiliza placas de centrifugação e um suporte de fibra de vidro, usando interações polares para purificar DNA com qualidade para PCR, aplicável em métodos de alta processividade de amostras. Os protocolos foram otimizados tanto para purificações de amostras de plantas como de animais, e pode render entre 100 ng e 10 µg de DNA a partir de amostras que variam de tecidos vegetais de folhas e sementes a caudas de roedores (Figura 4).

O Kleargene foi altamente otimizado para automação tanto em formatos de 96 poços (planta e tecido) quanto em formatos de 384 poços (planta), alcançando rendimento superior em relação a tecnologias de purificação similares.

As vantagens do Kleargene incluem:

- Purificações de DNA com alta processividade de amostras (formatos de 96 poços e 384 poços)
- Semiautomatizado (por meio da plataforma Biosearch Technologies Genespin)
- Purificações manuais com alta processividade de amostras (por meio de centrifugação)
- Ampla variedade de tipos de amostra (folhas vegetais, sementes vegetais, tecido animal)
- · Alto rendimento de DNA (qualidade para PCR)

Kit	Áreas de aplicação	Quantidade de material inicial	Rendimento esperado
Kleargene spin plates de 96 poços	Descoberta mais rápida de novos marcadores e característica de interesse com resultados	>6 discos de folha	5 μg
Kleargene spin plates de 384 poços	mais rápidos para o mercado. Não é necessário laboratório local.	2 a 3 discos de folha	1,5 μg

Tabela 1: Escalas de kits Kleargene disponíveis.

## Purificação de DNA para Sequenciamento de Nova Geração (NGS)

#### sbeadex

A necessidade de obter DNA de alta qualidade e em quantidade para aplicações de PCR, sequenciamento e Sequenciamento de Nova Geração pode ser atendida pelo portfólio de reagentes sbeadex® da Biosearch Technologies. Todos os kits sbeadex usam partículas superparamagnéticas modificadas em sua superfície que se ligam a ácidos nucleicos por meio de um mecanismo inovador de ligação em duas etapas (Figura 3). Primeiro, os ácidos nucleicos se fixam às partículas por meio de interações polares, e segundo, os ácidos nucleicos são ligados por meio de um mediador acionado por afinidade. Essa segunda etapa de ligação permite que as etapas de lavagem finais sejam executadas com o uso de soluções de lavagem à base de água, eliminando a necessidade de uma etapa de secagem, e minimizando qualquer

Figura 3: Fluxo de trabalho padrão para todos os produtos químicos de purificação à base de sbeadex. Lise Ligação 1 Lavagem 1 Lavagem 2 Ligação 2 Eluição

contaminação por etanol na etapa de eluição. A troca entre mecanismos de ligação também permite maior pureza dos ácidos nucleicos.

As vantagens do sbeadex incluem:

- DNA de alta qualidade: adequado para todas as aplicações genômicas (incluindo NGS)
- Compatível com a plataforma de extração automatizada oKtopure da Biosearch Technologies.
- Permite automação: adequado para a maioria das plataformas robóticas de extração que se basea em partículas magnéticas
- Condições de lise personalizadas de acordo com as necessidades do cliente
- Resultados mais rápidos: otimização do tempo de purificação
- · Volumes de kit e tamanhos flexíveis
- Nenhum solvente orgânico no tampão de lavagem final: resultando em pureza superior
- Nenhum sal na eluição: Alta Razão  $_{
  m OD260/230}$

Caracerísticas do sbeadex	Especificação
Cor	Marrom escuro
Estrutura da partícula superparamagnética	Tecnologia própria de duplo revestimento (concorrentes oferecem revestimento único)
Tamanho e formato	Irregular 80% de 5 a 10 μm (diâmetro); <53 μm
Capacidade máxima	2 μg de DNA/mg de partícula do sbeadex
Material de ligação e tecnologia	Mecanismo de ligação em 2 etapas: primeiro sílica e segundo adaptador de DNA
Formato de purificação	96
Automação	KingFisher (validado pelo laboratório); aplicável em outras plataformas abertas de manipulação de líquidos
Tipos de amostras	Sangue; planta; gado; forense; plasmídeos; outras amostras humanas
Aplicação	PCR; KASP®; químicas com sondas BHQ®; Sanger; NGS; Microarranjos
Capacidade de armazenamento	>12 meses

Tabela 2: Características e especificação das partículas magnéticas sbeadex.

O reagente sbeadex pode ser usado com uma variedade de espécies, modificando-se as condições de lise. Embora nossos protocolos padrão já forneçam DNA de alta qualidade, o sbeadex pode ser customizado e otimizado de acordo com as necessidades do cliente.

#### sbeadex plant

As amostras vegetais são frequentemente desafiadoras devido a metabólitos secundários, altos níveis de açúcares e polifenóis, ou paredes celulares resistentes. Os protocolos do kit sbeadex plant para material de folhas e/ou sementes de uma grande variedade de espécies vegetais tem sido validados e podem ser automatizados em todas as plataformas abertas, incluindo o oKtopure da Biosearch Technologies. Protocolos validados de purificação tem sido desenvolvidos para as seguintes espécies vegetais:

### Espécies vegetais com protocolos de purificação sbeadex validados

Pulgão da Soja, soja (Aphis glycines)	Pepino (Cucumis sativus)	Arroz asiático (Oryza sativa)
Berinjela (Solanum melongena)	Pimenta (Capsicum annuum)	Girassol (Helianthus annuus)
Cevada (Hordeum vulgare)	Batata (Solanum tuberosum)	Tomate (Solanum lycopersicum)
Beterraba (Beta vulgaris)	Colza/Canola/ Oleaginosa (Brassica napus)	Trigo (Triticale)

Tabela 3: Exemplos de espécies vegetais que têm protocolos de purificação validados para o uso dos reagentes sbeadex.

Kit	Áreas de aplicação	Quantidade de material inicial	Rendimento esperado
sbeadex mini plant	Folhas e	20 a 30 mg	2 µg
sbeadex maxi plant	Sementes de Plantas	80 a 100 mg	10 µg

Tabela 4: Escalas de kits sbeadex plant disponíveis



#### sbeadex livestock

A maioria das tecnologias de análise genômica baseadas em NGS (incluindo aquelas que trabalham com amostras de gado) normalmente necessitam de preparações de DNA de alta qualidade que são difíceis e trabalhosas de se obter. O protocolo do sbeadex livestock pode ser usado para todos os tipos de amostra, assim como o oKtopure pode ser usado para todas as amostras de animais (excluindo sangue).

Tipo de amostra	Espécies animais
Sangue*	Bovinos
Folículo piloso	Frangos
Saliva	Cães
Sêmen	Peixes
Tecido (por exemplo,	Cabras
punção de orelha)	Cavalos
Swab oral	Ovelhas
Cartões FTA	Porcos

Tabela 5: Tipos de amostra de diferentes espécies aplicáveis ao kit sbeadex livestock. \*Não compatível com o oKtopure

#### sbeadex blood

As amostras sanguíneas podem ter uma variação considerável na qualidade, e isso pode levar a amplas variações na uniformidade e no rendimento do DNA extraído. O sbeadex blood fornece altos rendimentos de DNA de fita dupla com alto peso molecular, a partir de diversos tipos de amostras de sangue, inclusive aquelas tratadas com anticoagulantes, incluindo:

- EDTA
- Heparina
- Citrato
- · Preparações de Buffy coat

Kit	Áreas de aplicação	Quantidade de material inicial	Rendimento esperado
sbeadex blood	Sangue total; preparações de <i>Buffy coat</i>	100 a 200 µl	4 a 12 μg

Tabela 6: Escalas de kits sbeadex blood disponíveis.

## Reagentes para Purificação de DNA/RNA/ ácido nucleico total

#### **MasterPure**

Algumas aplicações necessitam de flexibilidade para isolar o DNA genômico de alto peso molecular, RNA celular total ou ácido nucleico total a partir da mesma amostra. O kit de purificação de DNA e RNA MasterPure™ Complete DNA & RNA Kit permite o isolamento do DNA com qualidade para NGS e RNA ou ácido nucleico total em 30 a 60 minutos, com o uso de um kit único, e é adequado para diferentes tipos de amostra.

As aplicações para o kit MasterPure incluem:

- Preparação de biblioteca para sequenciamento de nova geração de DNA e RNA genômico
- Estudos de metilação de DNA (por exemplo, com o uso de Illumina® Infinium® HumanMethylation BeadChips)
- Clonagem de cDNA e DNA genômico
- PCR, qPCR, RT-PCR e qRT-PCR

 Análise de microarranio (incluindo CGH e análises de expressão gênica)

O kit usa um protocolo de precipitação de sal escalonável que elimina a necessidade de produtos químicos perigosos (sem necessidade de fenol, clorofórmio ou guanidina). Dependendo da quantidade de ácido nucleico necessária e do tamanho da amostra, diferentes kits MasterPure estão disponíveis, incluindo:

- O kit de purificação de DNA e RNA MasterPure™ Complete DNA & RNA Purification Kit
- O kit de purificação de DNA de sangue MasterPure™ DNA Purification Kit for Blood
- O kit de purificação de DNA de bactérias gram positivas MasterPure™ Gram Positive DNA Purification kit
- O kit de purificação de RNA de leveduras MasterPure™ Yeast RNA Purification Kit

### Purificações de DNA de grandes volumes

Biobancos e outros mercados de pesquisa humana necessitam de tecnologias de purificação de grandes volumes que fornecem DNA de alta qualidade.

A Biosearch Technologies oferece dois métodos rápidos, fáceis e com bom custo-benefício para a purificação de DNA de amostras de grandes volumes (Tabela 9):

•	·	•
Características Kleargene XL		PLUS XL
Tecnologia	Lise celular por detergente, seguida por purificação baseada em guanidina com ligação do DNA a partículas de sílica. Os contaminantes são removidos com o uso de etapas de lavagem à base de solvente orgânico, seguidas por eluição.	O DNA dos componentes celulares é enriquecido, e as proteínas residuais são digeridas. O DNA é subsequentemente precipitado, lavado, seco e, então, ressuspenso.
Automação	Apenas purificações manuais	Apenas purificações manuais
Aplicações	Qualidade para NGS	Qualidade para NGS
Volume inicial	Escalonável: Até 10 ml	Escalonável: Até 10 ml
Tipos de amostra	Sangue total; Saliva (incluindo tubos de coleta Oragene); Tecido	Sangue total; Saliva (incluindo tubos de coleta Oragene); Tecido
Rendimento médio de DNA	10 a 800 µg	10 a 800 µg

Tabela 7: Características dos



## Automação

Um exemplo da necessidade de tecnologias de biologia molecular com alta capacidade de processamento de amostras é a aceleração dos programas de melhoramento de criadores de plantas e gado. Processamento de amostras, qualidade do DNA, requisitos das aplicações subsequentes, mão-de-obra necessária, e custos da corrida, são os principais motivos e fatores decisivos para a escolha de plataformas de automação de alta capacidade. A Biosearch Technologies pode oferecer tanto o oKtopure™ quanto o Genespin™ para satisfazer essas necessidades, o que permite purificações de DNA com alta processividade de amostras, (semi) automatizadas e padronizadas (Tabela 8).

Características	oKtopure	Genespin
Grau de automação	Completamente automatizado	Semiautomatizado
Rendimento	Até 5.000 amostras/dia	Até 20.000 amostras/dia
Formato	96 poços	96 e 384 poços
Aplicações	Folhas de plantas; Sementes; Gado (punção de orelha, tecido)	Folhas de plantas; Sementes; Caudas de roedores
Qualidade do DNA	Muito alta (qualidade para NGS)	Alta (qualidade para PCR)
Aplicações subsequentes	Todas as aplicações genômicas, incluindo NGS	Tecnologias com base em PCR, incluindo KASP, BHQ
Funções de replicador	96 poços	96 e 384 poços
Dimensões (cm)	170 x 68,5 x 65	170 x 68,5 x 65
Requisitos de laboratório	Pressão de ar	Centrífuga com adaptadores de placa
Consumíveis	Opção de lavagem de ponteira	Opção de lavagem de ponteira



Tabela 8: Características chaves de ambas as plataformas automatizadas oKtopure e Genespin, compatíveis com reagentes sbeadex e Kleargene,



## Serviços de purificação

Nós da Biosearch Technologies desenvolvemos a purificação tanto para protocolos de DNA quanto de RNA a partir de uma ampla gama de materiais iniciais e volumes, que possibilitam o fornecimento de serviços para a maioria das aplicações ou soluções personalizadas que utilizam nossa exclusiva variedade de tecnologias.

## Serviços de purificação de DNA

Foram desenvolvidos protocolos de serviço de purificação de DNA altamente otimizados, a partir de uma ampla variedade de tipos de amostra, incluindo:

- Planta (incluindo raízes, folhas e sementes)
- Sangue (humano; animal, cartões FTA)
- Tecido (cabelo/pêlo, saliva, fígado, pele)
- Preparações de célula de cultura de tecido
- Preparações de plasmídeos de culturas de crescimento bacteriano

Características	Benefício do cliente
Laboratórios com alta processividade de amostras utilizando nossos sistemas oKtopure e Genespin.	Aplicável para qualquer tamanho de projeto e tipo de amostra.
Ácido nucleico de alta qualidade com rendimento otimizado por métodos com base em coluna e ácido nucleico de alta pureza com o uso de métodos de partículas magnéticas.	Purificação eficiente de DNA de alta qualidade com a quantidade de DNA o mais alta possível.
Mais de 16 anos de experiência em extração de DNA e genotipagem.	Dados confiáveis, robustos, reprodutíveis.
Opções de tempo de resposta padrão e rápido.	Tempos de resposta variam de 2 a 8 semanas dependendo dos requerimentos do projeto.
Serviços convenientes, como gerenciamento de amostra, armazenamento de amostra, quantificação e normalização, dispensação e mais.	Serviços adicionais customizados para se adequar às suas necessidades.

Tabela 9: Características chaves dos serviços de purificação de Biosearch Technologies.

# Serviços de purificação de RNA

Nossos laboratórios de serviço de extração de RNA na Alemanha podem purificar RNA de alta qualidade para aplicações subsequentes específicas. Os tipos de amostra normalmente incluem:

- · Sangue e tecido
- Tecido preservado em RNAlater<sup>®</sup>
- · Planta (incluindo folhas e sementes)
- Amostras coletadas em tubos sanguíneos PAXgene®

## Visão geral

	QuickExtract	Kleargene	sbeadex	MasterPure
Características chaves	Tecnologia de extração rápida e fácil de 3 a 8 minutos para DNA com qualidade para PCR	Purificação com alta processividade de amostras em formato de placa de 384 poços	Partículas magnéticas com protocolos flexíveis e sem sais caotrópicos/álcool no tampão de lavagem final	Purificação de DNA e RNA simultâneas no mesmo fluxo de trabalho
Mecanismo de ação	Extração rápida e fácil para uso direto	Suporte sólido de fibra de vidro inserido em uma microplaca	Partículas superparamagnéticas com superfície modificada	Reagente à base de precipitação salina
Produtos	Solução de Extração de DNA QuickExtract DNA  Solução de Extração de DNA QuickExtract FFPE  Solução de Extração de DNA de plantas QuickExtract Plant  Solução de Extração de RNA QuickExtract RNA	Kleargene plant spin Kleargene tissue spin	sbeadex plant sbeadex livestock sbeadex blood sbeadex tissue sbeadex forensic sbeadex plasmid	MasterPure Complete DNA & RNA Purification Kit  MasterPure DNA Purification Kit for Blood  MasterPure Gram Positive DNA Purification Kit  MasterPure Yeast RNA Purification Kit
Potencial de automação	Semiautomatizado (aquecimento necessário)	Semiautomatizado (centrifugação necessária)	Completamente automatizado (excluindo lise)	Semiautomatizado (centrifugação necessária)
Instrumento da Biosearch Technologies correspondente	Pipetadores de líquidos	Genespin	oKtopure	Pipetadores de líquidos
Escalabilidade	Formato de 96 poços	Formato de 96 ou 384 poços	Kits customizados e adaptados em formato de 96 poços	Formato de 96 poços
Opções para customização	Adaptação de volume	Adaptação da composição dos tampões	Adaptação a qualquer tipo de amostra (lise)	Adaptação de volume

Tabela 10: Visão geral dos reagentes de extração e purificação da Biosearch Technologies.

# 10

## Informações para pedido

Extração de DNA - QuickExtract			
Número de catálogo	Volume	Descrição	
QE09050	50 ml	QuickExtract DNA Extraction solution	
QEP70750	50 ml	QuickExtract Plant DNA Extraction solution	
QER090150	50 ml	QuickExtract RNA Extraction solution	
QEF81050	50 ml	QuickExtract FFPE DNA Extraction solution	

Tabela 11: Informações de pedido para produtos QuickExtract.

Preparações de Alto Volume - Kleargene e PLUS XL			
Número de catálogo	Preparações	Descrição	
NAP40801	10	PLUS XL (até 10 ml)	
NAP40810	50	PLUS XL (até 10 ml)	
KBS-1012-005	8	Kleargene blood (até 10 ml)	
KBS-1012-006	32	Kleargene blood (até 10 ml)	
KBS-1012-007	160	Kleargene blood (até 10 ml)	

Tabela 12: Informações de pedido para produtos Kleargene para amostras de sangue com alto volume.

Precipitação - Kit de Purificação de DNA e RNA MasterPure Complete DNA and RNA Purification Kit		
Número de catálogo	Descrição	
MC85200	100 Purificações de RNA ou 200 de DNA	
MC 89010	5 Purificações de RNA ou 10 de DNA	

Tabela 13: Informações de pedido para produtos MasterPu

Placas de centrifugação – Kleargene				
Número de catálogo	Preparações	Descrição		
KBS-1012-201	1 x 96	Kleargene plant		
KBS-1012-202	4 x 96	Kleargene plant		
KBS-1012-210	16 x 96	Kleargene plant		
KBS-1012-211	64 x 96	Kleargene plant		
KBS-1012-204	1 x 384	Kleargene plant		
KBS-1012-205	4 x 384	Kleargene plant		
KBS-1012-212	16 x 384	Kleargene plant		
KBS-1012-213	80 x 384	Kleargene plant		
KBS-1012-400	1 x 96	Kleargene tissue		
KBS-1012-401	4 x 96	Kleargene tissue		
KBS-1012-442	16 x 96	Kleargene tissue		
KBS-1012-443	64 x 96	Kleargene tissue		

Tabela 14: Informações de pedido para produtos Kleargene spin plates.

Partículas superparamagnéticas – sbeadex				
Número de catálogo	Preparações	Descrição		
NAP41301	96	sbeadex plasmid		
NAP41310	960	sbeadex plasmid		
NAP41405	96	sbeadex tissue		
NAP41450	960	sbeadex tissue		
NAP41501	96	sbeadex forensic		
NAP41510	960	sbeadex forensic		
NAP41601	96	sbeadex mini plant		
NAP41610	960	sbeadex mini plant		
NAP41602	96	sbeadex maxi plant		
NAP41620	960	sbeadex maxi plant		
NAP44701	96	sbeadex livestock trial		
NAP44702	960	sbeadex livestock		
NAP41640	960	sbeadex maxi plant (oKtopure)		
NAP41607	960	sbeadex mini plant (oKtopure)		
NAP41606	96	sbeadex mini plant trial		

<mark>abela 15: Inform</mark>ações de pedido para produtos sbeadex.

Genespin		
Número de catálogo	Descrição	
KBS-0010-001	Genespin - Robô de alta processividade com cabeça de 96 canais para uso com Kleargene	
KBS-0010-002	Genespin - Robô de alta processividade com cabeça de 384 canais para uso com Kleargene	
KBS-0900-023	Contrato completo de serviço com atendimento no local	

Tabela 16: Informações de pedido para produtos Genespin.

oKtopure		
Número de catálogo	Descrição	
KBS-0009-001	oKtopure - robô de extração de DNA de alta processividade	
KBS-0009-002	oKtowash™, tampão de lavagem concentrado (500 ml)	
KBS-0009-003	oKtopure tip wash station - estação de lavagem de ponteiras	
KBS-0009-004	Placas de processamento no oKtopure (placa Thermo de poço profundo de 1,2 ml)	
KBS-0009-005	Reservatórios para os tampões de lavagem (pacote com 4)	
KBS-0009-999	Contrato de serviço estendido, com atendimento no local	
KBS-0010-003	Ponteiras para o oKtopure	
KBS-6212-027	Placa magnética	



## Integrated tools. Accelerated science.

**y f** in @LGCBiosearch

biosearchtech.com

Todas as marcas comerciais e marcas comerciais registradas mencionadas no presente documento são de propriedade de seus respectivos proprietários. Todas as outras marcas comerciais e marcas comerciais registradas são de propriedade da LGC e suas subsidiárias. Especificações, termos preços estão sujeitos a mudanças. Nem todos os produtos estão disponíveis em todos os países Favor consultar seu representante de vendas local para detalhes. Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida ou transmitida em qualquer forma ou por quaisquer meios, eletrônicos ou mecânicos, incluindo fotocópia, gravação ou qualquer sistema de recuperação, sem a permissão escrita do detentor dos direitos autorais. © LGC Limited, 2021. Todos os direitos reservados GEN/997/CD/1021

