

Protocolo de extração de DNA total com o  
**Kit de Extração de DNA GTS pht**  
**250 amostras**

**Componentes:**

- Solução de coleta – 2 frascos contendo 125mL cada
- Solução I – 4 tubos contendo 1,250 mL cada
- Solução II – 1 frasco contendo 50 mL
- Solução III – 1 frasco contendo 50 mL
- Aditivo A – 1 tubo contendo 1,5 mL
- TE, pH8,0 – 1 frasco contendo 10 mL

A coleta de material deve ser feita de maneira asséptica, em microtubos de 1,5mL estéreis. As amostras devem ser identificadas. Adicionar, em seguida, 1000ul de solução de coleta. As amostras que serão coletadas podem conter: uma alçada de cultura proveniente de meio sólido, uma ou mais colônias isoladas, cultura proveniente de meio líquido, desde que centrifugada e lavada com água destilada estéril, extrato de plantas, sementes trituradas, etc.

Após a coleta, pode-se proceder à extração ou manter as amostras congeladas a -20°C até o momento do processamento.

Atenção: a solução para coleta é tóxica. Deve-se evitar o contato com pele e mucosas. Não deve ser ingerido.

**Processamento:**

- 1) Homogeneizar as amostras com a solução de coleta e incubar a 60-70°C por 10 min (pode-se usar banho-maria ou estufa).
- 2) Centrifugar 15min a 3000g.  
Coletar o sobrenadante em um novo tubo (microtubo 1,5 ml).
- 3) Adicionar 20ul/mL da solução I e homogeneizar.  
Verificar o pH: a coloração deve ser amarela. Caso esteja rosa, corrigir com 3ul do Aditivo A. Caso ainda permaneça rosa, adicionar mais 3ul do Aditivo A até surgir a cor amarela.
- 4) Incubar 20 minutos a 50-58°C (pode-se usar banho-maria ou estufa).
- 5) Centrifugar 5min entre 2.000 - 5.000 g.
- 6) Descartar o sobrenadante invertendo o tubo.
- 7) Lavar com 200 ul de solução II. Homogeneizar o pellet com a solução II com pipeta.
- 8) Centrifugar 5min a 1.500g.
- 9) Descartar o sobrenadante invertendo o tubo.
- 10) Lavar com 200ul de solução III (SOLUÇÃO DE LAVAGEM). Homogeneizar o pellet com a solução III com pipeta.
- 11) Centrifugar 5 min a 1.500g.
- 12) Descartar o sobrenadante invertendo o tubo.

- 13) Lavar com 200 ul de Acetona P.A. (**não fornecida**). Não ressuspender.
- 14) Centrifugar 5 min a 1.500 g.
- 15) Retirar todo o sobrenadante com auxílio de pipeta.
- 16) Secar o pellet 30 min a 50°C (Alternativamente overnight a 37°C) com o tubo aberto (usar estufa).
- 17) Adicionar 20 ul de tampão TE pht pH8,0 (fornecido junto com o kit de extração de DNA GTS pht – código: Kgts250).
- 18) Incubar 30 min a 50°C (pode-se usar banho-maria ou estufa).
- 19) Centrifugar 10 min a 6700g.
- 20) O DNA estará no sobrenadante (Transferir para um novo tubo - microtubo 0,5 ml).

**Precauções:**

**Os produtos devem ser manipulados apenas por pessoas capacitadas. Deve-se usar equipamentos de proteção individual para manipulação, e evitar o contato com a pele, mucosas e olhos. As soluções de coleta e n° I são tóxicas. Provocam irritação em contato com pele e mucosas. Em contato acidental com a pele, olhos ou mucosas, lavar com água em abundância.**

**Atenção: Uso restrito para pesquisa laboratorial.**

**Armazenamento: temperatura ambiente**

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.  
This page will not be added after purchasing Win2PDF.