

* Antes de utilizar el kit de extracción viral de Galenvs, es importante agregar etanol (>95%) a las soluciones amortiguadoras de lavado "Wash Buffer #1 y #2" como se indica en la botella correspondiente. Se recomienda marcar la tapa de la botella para indicar que el etanol ha sido agregado.

* Antes de comenzar cada extracción de material genético, asegúrese de agitar vigorosamente las botellas con los reactivos.

* **Precaución!!!** El rack magnético contenido en el kit es extremadamente fuerte y puede causar daño físico si no se maneja con cuidado. Adicionalmente, evite colocar el imán cerca de equipos eléctricos sensibles como computadoras y celulares.

1) ¿Cuántos tubos de microcentrífuga debo utilizar por extracción?

- El proceso de extracción se debe de realizar en un solo tubo de microcentrífuga. Se recomienda transferir la muestra purificada de ARN final a un tubo nuevo y limpio de microcentrífuga para su posterior análisis o almacenamiento.

2) ¿Cuántas extracciones deben llevarse a cabo utilizando los estantes magnéticos?

- Cada extracción en un solo tubo puede llevarse a cabo dentro de 15-20 minutos y requiere de su propio estante magnético. Es posible realizar múltiples extracciones en paralelo si se utilizan simultáneamente varios estantes magnéticos. Sin embargo, para evitar posibles errores en el procedimiento, es recomendable no exceder de 8 extracciones simultáneas en sus respectivos 8 tubos de microcentrífuga y 8 estantes magnéticos.

3) ¿Se puede utilizar cualquier estante magnético?

- Sí, cualquier estante magnético disponible comercialmente es compatible con el kit de extracción Galenvs. Sin embargo, el tiempo de captura del material genético puede variar dependiendo de la fuerza del imán.

4) ¿Qué tipo de muestras se pueden utilizar para extracción viral de ARN con el kit Galenvs?

- Cualquier medio libre de células puede ser utilizado para extracción de ARN. Esto incluye solución de conservación de hisopos, soluciones de inactivación viral, solución de transporte viral, sobrenadante de cultivos celulares, saliva u orina.

5) ¿Cuándo debe usarse el ARN transportador (Carrier RNA)?

- Se recomienda utilizar el ARN transportador si la carga viral es muy baja. Galenvs recomienda su uso si el número de copias se encuentra por debajo de 100 copias/ μL de muestra.

6) ¿Se puede utilizar agua para la elución del ARN extraído?

- Sí, puede utilizarse agua libre de nucleasas o agua tratada con DEPC (pirocarbonato de dietilo) para la elución.

7) ¿El volumen de elución puede ser igual o menor a 50 μL ?

- El volumen recomendado es de exactamente 50 μL para obtener una concentración adecuada de ARN para su posterior análisis (PCR, NGS, etc.). Sin embargo, es posible utilizar un volumen menor (20-50 μL) para obtener una muestra más concentrada, o un volumen mayor (hasta 200 μL) para reducir concentración final de ARN.

8) ¿Es necesario calentar o usar agitación vórtex para la extracción viral de ARN?

- No es necesario calentar o usar agitación vórtex con el kit de extracción Galenvs.

9) ¿Es posible utilizar la agitación vórtex en lugar de pipetear hacia arriba y hacia abajo para mezclar y dispersar las cuencas magnéticas durante el protocolo de extracción?

- Es recomendable mezclar siempre utilizando la pipeta ya que la agitación vórtex puede ocasionar que la muestra quede atrapada debajo de la tapa del tubo de microcentrífuga, lo cual requeriría recuperarla centrifugando brevemente el tubo.

10) ¿Qué volumen de puntas de pipeta deben utilizarse?

- Para añadir el RNA transportador, deben utilizarse puntas de 1-10 μ L, mientras que, para la muestra, se recomiendan puntas de 10-100 μ L o de 200 μ L. Para la solución de lisis/captura y soluciones amortiguadoras de lavado, se aconseja usar puntas de 100-1000 μ L. Finalmente, para la elución se recomienda nuevamente utilizar puntas de 10-100 μ L o de 200 μ L.

11) Después de desechar el sobrenadante, seguido del lavado con la solución amortiguadora #2, y antes de llevar a cabo la elución, queda líquido residual. ¿Es suficiente dejar secar por 1 minuto las cuencas magnéticas?

- Es importante tratar de desechar toda la solución remanente después del lavado con la solución amortiguadora #2. Típicamente, 1 minuto de secado debería ser suficiente, sin embargo, es posible extender el tiempo de secado hasta 3 minutos, de ser necesario. Es importante que no deje secar las cuencas por más de 5 minutos, ya que cierta cantidad de humedad es necesaria para lograr una elución eficiente.

12) ¿Por qué el lavado #1 requiere 5 minutos, mientras que el lavado con la solución #2 solamente requiere 1-2 minutos?

-Se recomienda que la incubación en el estante magnético después del lavado #1 se lleve a cabo por 5 minutos para asegurar la completa desorción de contaminantes de la superficie de las cuencas magnéticas. Esto no es necesario después del lavado #2 ya que en este paso la superficie de las cuencas magnéticas está más limpia, por lo que solamente es necesaria la remoción de sales en este paso.