

Janeiro de 2021

Instruções de uso (Manual) do QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit



Versão 2



Para uso em diagnóstico in vitro



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden
Tel.: +49-2103-29-0



1122788BR



Conteúdo

| | |
|---|----|
| Uso pretendido..... | 5 |
| Descrição e princípio | 6 |
| Lise de células sanguíneas..... | 6 |
| Ligação do DNA genômico à membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini..... | 6 |
| Purificação automatizada no QIAcube/QIAcube Connect MDx..... | 7 |
| Resumo e explicação | 10 |
| Materiais fornecidos | 11 |
| Conteúdo do kit | 11 |
| Materiais necessários, mas não fornecidos..... | 12 |
| Avisos e precauções | 14 |
| Informações de segurança..... | 14 |
| Armazenamento e manuseio de reagentes | 16 |
| Armazenamento e manuseio de espécimes..... | 16 |
| Remoção de contaminantes residuais..... | 18 |
| Eluição de DNA genômico puro..... | 18 |
| Notas importantes | 18 |
| Pontos importantes antes de iniciar um protocolo | 18 |
| Preparo de reagentes e tampões..... | 19 |
| Manuseio das colunas de centrifugação do QIAamp Mini | 20 |
| Eluição de DNA genômico | 21 |
| Rendimento e qualidade do DNA genômico..... | 21 |

| | |
|--|----|
| Montagem do sistema de vácuo QIAvac 24 Plus | 22 |
| Procedimento | 24 |
| Protocolo: isolamento e purificação de DNA genômico de amostras de sangue usando um sistema de vácuo | 24 |
| Protocolo: isolamento e purificação de DNA genômico de amostras de sangue usando uma microcentrífuga ou o QIAcube/QIAcube Connect MDx..... | 28 |
| Controle de qualidade | 32 |
| Limitações..... | 32 |
| Características de desempenho | 33 |
| Símbolos | 38 |
| Informações para pedidos | 40 |
| Histórico de revisões do documento..... | 42 |

Uso pretendido

O QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit é um sistema que usa tecnologia de membrana de sílica (tecnologia QIAamp) para o isolamento e a purificação de DNA genômico de amostras biológicas.

O produto destina-se a ser usado por usuários profissionais, como técnicos e médicos treinados em técnicas de biologia molecular.

O QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit deve ser usado para diagnóstico in vitro.

Descrição e princípio

O procedimento para cada QIAamp DSP DNA Blood Mini é constituído por quatro etapas:

- Lise das células na amostra de sangue
- Ligação do DNA genômico no lisado de células à membrana de uma coluna de centrifugação do QIAamp Mini
- Lavagem da membrana
- Eluição do DNA genômico da membrana

Este manual contém protocolos para dois procedimentos alternativos do QIAamp DSP DNA Blood Mini: o procedimento de centrifugação, que requer uma centrífuga, e o procedimento de vácuo, que requer uma centrífuga e um sistema de vácuo (consulte o fluxograma na página 9). O procedimento de centrifugação pode ser automatizado no QIAcube e no QIAcube Connect MDx.

Lise de células sanguíneas

As amostras são lisadas sob condições de desnaturação a temperaturas elevadas. A lise é realizada na presença de QIAGEN Protease (QP) e de tampão de lise (AL).

Ligação do DNA genômico à membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini

Para otimizar a ligação do DNA genômico à membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini, em primeiro lugar, deve ser adicionado etanol aos lisados. Em seguida, cada lisado é aplicado a uma coluna de centrifugação do QIAamp Mini e o DNA genômico é adsorvido na membrana de sílica à medida que o lisado passa pela coluna através da pressão de vácuo ou da força da centrifugação.

Purificação automatizada no QIAcube/QIAcube Connect MDx

O QIAcube e o QIAcube Connect MDx realizam o isolamento e a purificação automatizados de ácidos nucleicos. Eles podem processar até 12 amostras em uma única execução.

O preparo de amostras usando o QIAcube e o QIAcube Connect MDx segue as mesmas etapas do procedimento manual (isto é, lise, ligação, lavagem e eluição), permitindo continuar usando o QIAamp DSP DNA Mini Kit para a purificação de DNA de alta qualidade.

Em caso de automatização do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit nos instrumentos QIAcube ou QIAcube Connect MDx, é possível que eles processem menos de 50 amostras devido aos volumes mortos, à evaporação e ao consumo adicional de reagentes pela pipetagem automatizada. A QIAGEN garante apenas 50 preparos de amostras com o uso manual do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



Figura 1. O QIAcube.

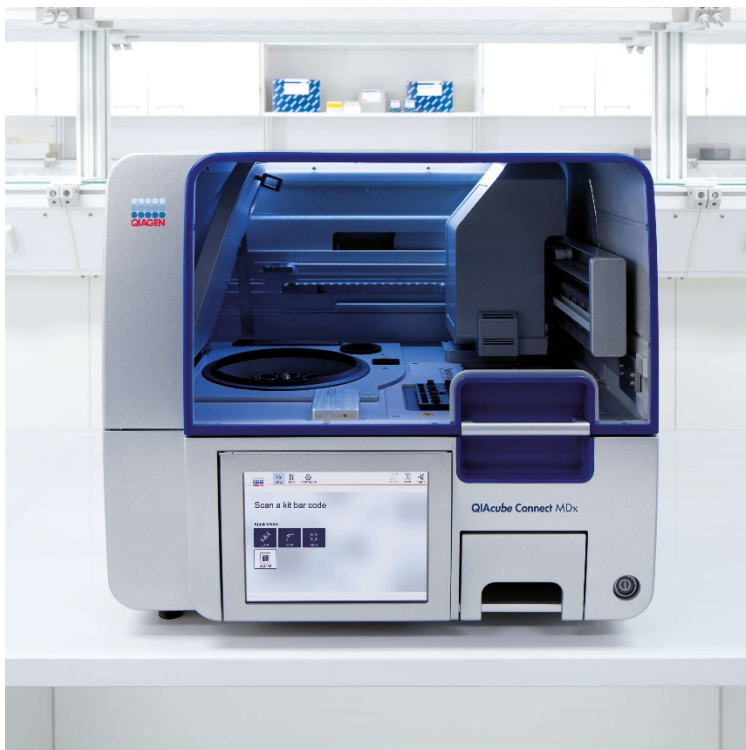


Figura 2. O QIAcube Connect MDx.

Os procedimentos de centrifugação e vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini

Procedimento de centrifugação do QIAamp

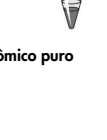
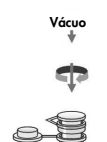
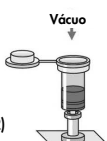
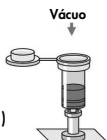
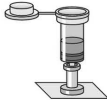
Amostra



DNA viral ou genômico puro

Procedimento de vácuo do QIAamp

Amostra



Leia os protocolos (páginas 24 e 28) cuidadosamente antes de começar.

No LT, adicione 20 µl de QP, 200 µl de amostra e 200 µl de AL e agite em vórtex por 15 segundos. Incube por 10 minutos (± 1 minuto) a 56 °C (± 1 °C) Adicione 200 µl de etanol. Agite em vórtex por 15 segundos.

Transfira o lisado para a coluna de centrifugação do QIAamp Mini.

Procedimento de centrifugação: Centrifugue por 1 minuto a 6000 x g.

Procedimento de vácuo: Aplique vácuo.

Procedimento de centrifugação: Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini em um novo WT, adicione 500 µl de AW1 e centrifugue por 1 minuto a 6000 x g.

Procedimento de vácuo: Adicione 750 µl de AW1 e aplique vácuo.

Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini em um novo WT, adicione 500 µl de AW2 e centrifugue por 1 minuto à velocidade máxima (aproximadamente 20.000 x g ou 14.000 rpm).

Procedimento de vácuo: Adicione 750 µl de AW2 e aplique vácuo.

Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini no WT.

Centrifugue por 3 minutos à velocidade máxima (aproximadamente 20.000 x g ou 14.000 rpm).

Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini no ET.

Adicione 50 a 200 µl de AE e incube por 1 minuto.

Centrifugue por 1 minuto a 6000 x g.

Resumo e explicação

O QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit usa uma tecnologia consagrada para fornecer uma maneira rápida e fácil de isolar e purificar o DNA genômico a partir de 200 µl de sangue total.




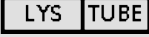


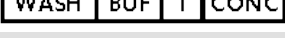


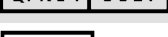


Os procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini, que são projetados para o processamento simultâneo de várias amostras de sangue, produzem um DNA purificado e pronto a ser usado. Os procedimentos são adequados para uso com sangue total fresco ou congelado e sangue que tenha sido tratado com citrato ou EDTA.

Os procedimentos simples de centrifugação e vácuo do QIAamp DSP são adequados para o processamento simultâneo de várias amostras. Alguns dos procedimentos de centrifugação do QIAamp podem ser totalmente automatizados no QIAcube ou no QIAcube Connect MDx para uma maior padronização e facilidade de uso (página 7).

A separação prévia de leucócitos não é necessária. Os procedimentos não exigem extração de fenol/clorofórmio nem precipitação com álcool e exigem muito pouca interação por parte do usuário, permitindo o manuseio seguro de amostras potencialmente infecciosas. Os procedimentos são projetados para minimizar a contaminação cruzada entre amostras. O DNA purificado está pronto para ser usado em PCR ou outras aplicações ou, alternativamente, pode ser armazenado entre -25°C e -15°C para uso posterior.

Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

| | | | |
|-------------------------------|--|---|-------------|
| QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit | | | |
| Nº de referência | | | 61104 |
| Número de preparos | | | 50* |
| 5 | QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (QIAamp Mini Spin Columns com tubos de lavagem) (WT) (2 ml) |  | 50 |
| ET | Elution Tubes (Tubos de eluição) (1,5 ml) |  | 50 |
| VC | VacConnectors |  | 50 |
| LT | Lysis Tubes (Tubos de lise) (1,5 ml) |  | 50 |
| WT | Wash Tubes (Tubos de lavagem) (2 ml) |  | 3 x 50 |
| AL | Lysis Buffer (Tampão de lise) [†] |  | 12 ml |
| AW1 | Wash Buffer 1 (Tampão de lavagem 1 [concentrado]) [†] |  | 19 ml |
| AW2 | Wash Buffer 2 (Tampão de lavagem 2 [concentrado]) [†] |  | 13 ml |
| AE | Elution Buffer (Tampão de eluição) [†] |  | 25 ml |
| PS | Protease Solvent (Solvente de protease) [‡] |  | 2 ml |
| QP | QIAGEN Protease [§] |  | 1 frasco |
| - | Instruções de uso (Manual) |  | 1 |

* Em caso de automatização do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit no instrumento QIAcube ou QIAcube Connect MDx, é possível que o instrumento processe menos de 50 amostras devido aos volumes mortos, à evaporação e ao consumo adicional de reagentes pela pipetagem automatizada. A QIAGEN garante apenas 50 preparos de amostras com o uso manual do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

[†] Contém cloridrato de guanidina. Não compatível com desinfetantes que contenham água sanitária. Para obter mais informações, consulte Informações de segurança, na página 14.

[‡] Contém azida de sódio como conservante.

[§] Volume de ressuspensão de 1,2 ml. Consulte "Preparo de reagentes e tampões", na página 19.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre use um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas, disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

Para os procedimentos de centrifugação e vácuo

- Etanol (96–100%)
- Pipetas* e ponteiras de pipetas (para evitar a contaminação cruzada, recomendamos fortemente a utilização de ponteiras de pipetas com barreiras contra aerossóis)
- Luvas descartáveis
- Bloco de aquecimento* para a lise das amostras a 56 °C (recomendamos o sistema termogitador Eppendorf® Thermomixer® comfort com bloco térmico para micro tubos de teste de 1,5 ml†)
- Microcentrífuga*
- Cilindro graduado (50 ml)
- Agitador tipo vórtex

Apenas para o procedimento de vácuo

- Sistema de vácuo QIAvac 24 Plus (n° de ref. 19413) ou equivalente
- VacConnectors (n° de ref. 19407)
- VacValves (n° de ref. 19408)
- QIAvac Connecting System (n° de ref. 19419)
- Vacuum Pump (n° de ref. 84020)
- Vacuum Regulator (n° de ref. 19530)

* Para garantir que as amostras sejam devidamente processadas utilizando os procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini, recomendamos fortemente que os instrumentos (por ex., pipetas e blocos de aquecimento) sejam calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

† Esta lista de fornecedores não é completa e não inclui vários distribuidores importantes de produtos biológicos.

Apenas para o procedimento automatizado

- Rotor Adapters, n° de ref. 990394
- Rotor Adapter Holder, n° de ref. 990392
- Sample Tubes CB, n° de ref. 990382 (tubo de inserção de amostra)
- Shaker Rack Plugs, n° de ref. 9017854
- Reagent Bottles, 30 ml, n° de ref. 990393
- Filter Tips, 1000 µl, n° de ref. 990352
- Filter Tips, 200 µl, n° de ref. 990332
- SafeSeal Tube, 1,5 mL, Sarstedt® (n° de ref. 72.706)

Avisos e precauções

Esteja ciente de que poderá ser necessário relatar incidentes graves que tenham ocorrido em relação ao dispositivo ao fabricante e à autoridade regulatória na qual o usuário e/ou o paciente estão estabelecidos.

Informações de segurança

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre use um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) aplicáveis. Elas estão disponíveis online em formato PDF compacto e conveniente em www.qiagen.com/safety, onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a SDS para cada kit e para componente do kit QIAGEN.



CUIDADO: NÃO adicione água sanitária ou soluções ácidas diretamente nos resíduos resultantes do preparo de amostras.

O tampão de lise (AL) e o tampão de lavagem 1 (AW1) contêm cloridrato de guanidina, que pode formar compostos altamente reativos quando misturado com água sanitária. Se for derramado líquido contendo essas soluções tamponadas, limpe com água e detergente de laboratório adequado. Se o líquido derramado contiver agentes potencialmente infecciosos, limpe a área afetada primeiro com água e detergente de laboratório e, em seguida, com solução de hipoclorito de sódio 1% (v/v). Se os frascos dos tampões estiverem danificados ou apresentarem vazamento, use luvas e óculos de proteção ao descartá-los para evitar lesões a si mesmo ou a outras pessoas.

A QIAGEN não testou os resíduos líquidos gerados pelos procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini em relação a materiais residuais infecciosos. A contaminação dos resíduos líquidos com materiais residuais infecciosos é improvável, mas não pode ser completamente excluída. Portanto, os resíduos líquidos devem ser considerados infecciosos e manipulados e descartados de acordo com os regulamentos de segurança locais.

As seguintes frases de risco e segurança se aplicam aos componentes do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Tampão de lise (AL) e Tampão de lavagem 1 (AW1)



Contém: cloridrato de guanidina. Aviso! Nocivo, se engolido ou inalado. Provoca irritação da pele. Causa irritação grave nos olhos. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

QIAGEN Protease (QP)



Contém: subtilisina. Perigo! Nocivo, se engolido. Provoca irritação da pele. Causa lesões graves nos olhos. Se inalado, pode causar sintomas de asma ou alergia ou dificuldades respiratórias. Pode provocar irritação das vias respiratórias. Evite respirar poeira/fumaça/gás/névoa/vapores/spray. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.



Use proteção respiratória. EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS:



Enxágue cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se presentes e fáceis de remover. Continue enxaguando. EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Entre em contato imediatamente com um CENTRO DE CONTROLE DE INTOXICAÇÕES E ENVENENAMENTOS ou um médico. Leve a vítima para um local ao ar livre e deixe-a em repouso em uma posição confortável para respirar.

Armazenamento e manuseio de reagentes

As colunas de centrifugação do QIAamp Mini devem ser armazenadas a 2–8 °C após a entrega e podem ser usadas até o fim do prazo de validade indicado na caixa do kit.

Todos os tampões podem ser armazenados à temperatura ambiente (15–25 °C) até o fim do prazo de validade indicado na caixa do kit.

A QIAGEN Protease (QP) liofilizada pode ser armazenada à temperatura ambiente (15–25 °C) até o fim do prazo de validade do kit sem que isto afete seu desempenho. A QIAGEN Protease reconstituída permanece estável até um ano quando conservada 2–8 °C, mas apenas até o fim do prazo de validade do kit.

O tampão de lavagem 1 (AW1) reconstituído e o tampão de lavagem 2 (AW2) reconstituído permanecem estáveis até um ano quando armazenados à temperatura ambiente (15–25 °C), mas apenas até o fim do prazo de validade do kit.

Armazenamento e manuseio de espécimes

Os crioprecipitados formados durante o descongelamento de amostras congeladas irão obstruir a membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini. Se os crioprecipitados forem visíveis, evite aspirá-los durante a aspiração da amostra. Foram determinados os efeitos do congelamento e descongelamento das amostras de sangue na purificação de DNA usando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (consulte a Figura 3).

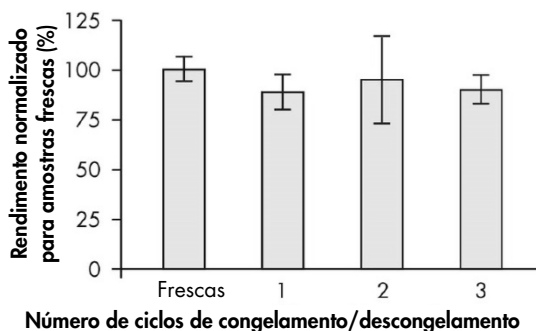


Figura 3. Efeitos do congelamento e descongelamento das amostras de sangue. O sangue tratado com EDTA foi congelado e descongelado até 3 vezes e depois submetido à purificação de DNA usando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Os rendimentos de DNA calculados são normalizados para o rendimento de amostras frescas (100%). Cada barra do gráfico representa os resultados de 32 réplicas (média \pm desvio padrão).

A quantidade de DNA purificado resultante dos procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini depende da quantidade de glóbulos brancos de cada amostra de sangue. Usando o procedimento de centrifugação ou vácuo, o DNA genômico é purificado a partir de 200 μ l de amostras de sangue de doadores saudáveis. Podem ser usados vários tubos primários e anticoagulantes diferentes para coletar amostras de sangue para os procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini (Tabela 1).

Tabela 1. Rendimentos médios relativos do DNA de amostras de sangue coletadas usando vários tubos primários e anticoagulantes

| Tubo primário | Fabricante | Nº de ref. | Volume nominal | Rendimento médio* |
|---------------------|------------------|-------------|----------------|-------------------|
| BD® Vacutainer® 9NC | BD | 366007 | 9 ml | 6,4 μ g |
| BD Vacutainer K3E | BD | 36847 | 10 ml | 6,6 μ g |
| BD Vacutainer K2E | BD | 367864 | 6 ml | 6,4 μ g |
| S-Monovette® EDTA | Sarstedt® | 02.1066.001 | 9 ml | 6,5 μ g |
| S-Monovette CPDA1 | Sarstedt | 01.1610.001 | 8,5 ml | 6,3 μ g |
| Vacurette® K3E | Greiner Bio-One® | 455036 | 9 ml | 6,5 μ g |
| Vacurette 9NC | Greiner Bio-One | 454382 | 2 ml | 6,3 μ g |

O DNA genômico foi purificado a partir de 200 μ l de amostras de sangue de doadores saudáveis (4,0 a 9,0 $\times 10^6$ células por ml).

* Para cada tubo primário, o rendimento médio é determinado a partir de 11 amostras em triplicata.

Remoção de contaminantes residuais

Enquanto o DNA genômico permanece ligado à membrana da QIAamp Mini Spin Column, os contaminantes são lavados eficientemente usando o tampão de lavagem 1 (AW1) e depois o tampão de lavagem 2 (AW2).

Eluição de DNA genômico puro

O DNA genômico é eluído da membrana da QIAamp Mini Spin Column usando 50 a 200 µl de tampão de eluição (AE). O DNA eluído está pronto a ser usado em diferentes ensaios posteriores, incluindo uma variedade de ensaios posteriores de diagnóstico *in vitro*.

Notas importantes

Pontos importantes antes de iniciar um protocolo

- Assim que receber o kit, verifique se há algum dano nos respectivos componentes. Se os blísteres ou os recipientes dos tampões estiverem danificados, entre em contato com a Assistência Técnica da QIAGEN ou com o distribuidor local. Em caso de derramamento de líquidos, consulte "Informações de segurança" (página 14). Não use componentes de kits danificados, uma vez que o seu uso pode prejudicar o desempenho do kit.
- Troque sempre as ponteiros das pipetas entre as transferências de líquidos. Para minimizar a contaminação cruzada, recomenda-se o uso de ponteiros de pipetas com barreiras contra aerossóis.
- Todas as etapas de centrifugação são realizadas à temperatura ambiente (15–25 °C).
- Sempre use luvas descartáveis e verifique regularmente se elas não estão contaminadas com o material da amostra. Descarte as luvas se elas se contaminarem.
- Para minimizar a contaminação cruzada, abra apenas um tubo por vez.

- Não use componentes de outros kits com o kit que estiver usando no momento, a menos que os números de lote sejam idênticos.
- Evite a contaminação microbiana dos reagentes do kit.
- Para minimizar o risco de infecção por material potencialmente infeccioso, recomendamos trabalhar em condições de fluxo de ar laminar até que as amostras sejam lisadas.
- Este kit sempre deve ser usado por uma equipe treinada em práticas laboratoriais de diagnóstico in vitro.

Preparo de reagentes e tampões

- Preparo da QIAGEN Protease

Adicione 1,2 ml de solvente de protease (PS) ao frasco de QIAGEN Protease (QP) liofilizada e misture cuidadosamente. Para evitar a formação de espuma, misture invertendo o frasco várias vezes. Certifique-se de que a QIAGEN Protease (QP) esteja completamente dissolvida.

Importante: Não adicione a QIAGEN Protease (QP) diretamente ao tampão de lise (AL).

- Preparo do tampão de lavagem 1

Utilizando um cilindro graduado, adicione 25 ml de etanol (96 a 100%) ao frasco que contém 19 ml de tampão de lavagem 1 (AW1) concentrado. Armazene o tampão de lavagem 1 (AW1) reconstituído à temperatura ambiente (15–25 °C).

Importante: Sempre misture o tampão de lavagem 1 (AW1) reconstituído invertendo o frasco várias vezes antes de iniciar o procedimento.

- Preparo do tampão de lavagem 2

Utilizando um cilindro graduado, adicione 30 ml de etanol (96 a 100%) ao frasco que contém 13 ml de tampão de lavagem 2 (AW2) concentrado. Armazene o tampão de lavagem 2 (AW2) reconstituído à temperatura ambiente (15–25 °C).

Importante: Sempre misture o tampão de lavagem 2 (AW2) reconstituído invertendo o frasco várias vezes antes de iniciar o procedimento.

- Preparo do tampão de eluição

Um frasco de tampão de eluição (AE) é fornecido junto com o kit. Para evitar a contaminação do tampão de eluição (AE), recomendamos fortemente o uso de ponteiras de pipeta com barreiras contra aerossóis ao pipetar o tampão de eluição (AE) a partir do frasco e substituir a tampa do frasco imediatamente após a sua utilização.

Importante: O tampão de eluição (AE) contém azida de sódio como conservante, que apresenta absorção a 260 nm. Portanto, ao quantificar o DNA no eluato através da medição da absorção a 260 nm, ao determinar a pureza do DNA no eluato através da medição da absorção a 260 nm e 280 nm ou ao verificar a absorção no intervalo entre 220 nm e 350 nm, certifique-se de que o branco contenha a mesma concentração de azida sódica que o eluato. Por exemplo, se estiver preparando o eluato para medições de absorvância através da diluição de 50 µl de eluato com 100 µl de água, prepare o branco diluindo 50 µl de tampão de eluição (AE) com 100 µl de água. Use água fresca e destilada para as diluições.

Manuseio das colunas de centrifugação do QIAamp Mini

Dada a sensibilidade das tecnologias de amplificação de ácidos nucleicos, as precauções indicadas a seguir são necessárias ao manusear as colunas de centrifugação do QIAamp Mini, a fim de evitar a contaminação cruzada entre os preparos de amostras:

- Aplique com cuidado a amostra ou solução na coluna de centrifugação do QIAamp Mini. Pipete a amostra na coluna de centrifugação do QIAamp Mini sem molhar a borda da coluna.
- Troque sempre as ponteiras das pipetas entre as transferências de líquidos. Recomendase o uso de ponteiras de pipetas com barreiras contra aerossóis.
- Evite o contato da membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta.
- Após todas as etapas de agitação em vórtex pulsador, centrifugue brevemente os tubos da microcentrífuga para remover as gotas do interior das tampas.

- Abra apenas uma coluna de centrifugação do QIAamp Mini de cada vez e tome cuidado para evitar a geração de aerossóis.
- Use luvas durante todo o procedimento. Em caso de contato entre as luvas e a amostra, troque as luvas imediatamente.

Eluição de DNA genômico

O volume de DNA eluído de uma coluna de centrifugação do QIAamp Mini pode ser até 20 µl inferior ao volume do tampão de eluição (AE) aplicado à coluna. O volume de eluato recuperado depende da natureza da amostra. O tampão de eluição (AE) deve ser equilibrado à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de ser aplicado à coluna. O DNA eluído é coletado em tubos de eluição (ET). Se armazenar o DNA por até 4 semanas, recomendamos o armazenamento a 2–8 °C. Para o armazenamento prolongado, recomendamos o armazenamento entre -30 e -15 °C.

Rendimento e qualidade do DNA genômico

O rendimento e a qualidade do DNA genômico isolado são adequados para muitos tipos de procedimentos de detecção posteriores em diagnósticos moleculares. Os ensaios de diagnóstico devem ser realizados de acordo com as instruções do fabricante.

Montagem do sistema de vácuo QIAvac 24 Plus

Certifique-se de configurar a coluna de centrifugação do QIAamp Mini, o VacConnector (VC) e a VacValve corretamente (consulte a Figura 4).

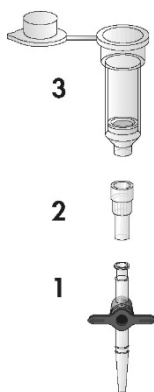


Figura 4. Montagem dos componentes do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit para o processamento de amostras com vácuo. (1) VacValve (2) VacConnector (VC) (3) Coluna de centrifugação do QIAamp Mini

Se estiver usando o procedimento de vácuo com o sistema de vácuo QIAvac 24 Plus, recomendamos rotular os tubos de lise (LT), os tubos de eluição (ET) e as colunas de centrifugação do QIAamp Mini de acordo com o esquema da Figura 5 (consulte a página seguinte) para evitar a mistura de amostras. Essa figura pode ser fotocopiada e rotulada com os nomes das amostras. Recomendamos o uso de um esquema similar se estiver usando outros sistemas de vácuo ou o procedimento de centrifugação.

Data: _____

Operador: _____

ID da execução: _____

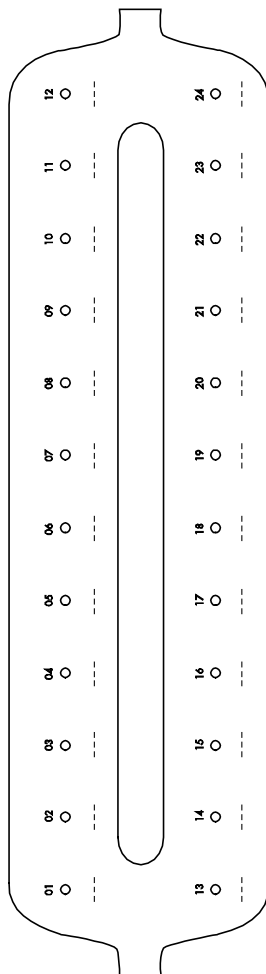


Figura 5. Esquema de rotulagem dos tubos de lise (LT), dos tubos de eluição (ET) e das colunas de centrifugação do QIAamp Mini para uso no sistema de vácuo QIAvac 24 Plus.

Procedimento

Protocolo: isolamento e purificação de DNA genômico de amostras de sangue usando um sistema de vácuo

Para o isolamento e a purificação de DNA genômico a partir de 200 µl de amostras de sangue total, tratadas com EDTA ou citrato, usando um sistema de vácuo como o sistema de vácuo QIAvac 24 Plus.

Pontos importantes antes de começar

O seguinte procedimento fornece instruções para o processamento de uma única amostra de sangue. No entanto, podem ser processadas até 24 amostras ao mesmo tempo com o sistema de vácuo QIAvac 24 Plus.

O que fazer antes de começar

- Equilibre as amostras de sangue à temperatura ambiente e certifique-se de que elas estejam bem misturadas.
- Em caso de formação de um precipitado no tampão de lise (AL), dissolva-o por meio de incubação a 56 °C.
- Certifique-se de que o tampão de lavagem 1 (AW1), o tampão de lavagem 2 (AW2) e a QIAGEN Protease (QP) tenham sido preparados de acordo com as instruções fornecidas em "Preparo de reagentes e tampões", na página 19.
- Equilibre o tampão de eluição (AE) à temperatura ambiente para usá-lo na etapa 14.
- Coloque um bloco de aquecimento a 56 °C para usá-lo na etapa 4.
- Para minimizar a contaminação cruzada, insira um VacConnector (VC) em cada adaptador luer do sistema de vácuo.
- Os procedimentos de controle de qualidade na QIAGEN incluem testes funcionais de aprovação de kits para todos os lotes individuais de kits. Portanto, não misture reagentes de lotes de kits diferentes e não combine reagentes individuais de diferentes lotes de reagentes.

- Certifique-se de que o frasco de resíduos do sistema de vácuo esteja vazio e de que todas as conexões estejam ligadas de forma correta.
- Para obter detalhes sobre o funcionamento do sistema de vácuo, especialmente no que se refere à manutenção, consulte o manual fornecido.

Procedimento

1. Pipete 20 µl de QIAGEN Protease (QP) em um tubo de lise (LT).

Nota: Verifique o prazo de validade da protease reconstituída antes de usá-la.

2. Adicione 200 µl de amostra de sangue ao tubo de lise (LT).
3. Adicione 200 µl de tampão de lise (AL) ao tubo de lise (LT), feche a tampa e misture por agitação em vórtex pulsador por 15 segundos.

Para garantir uma lise eficiente, é essencial que a amostra e o tampão de lise (AL) sejam completamente misturados até obter uma solução homogênea.

Nota: Como o tampão de lise (AL) apresenta uma elevada viscosidade, certifique-se de que seja adicionado o volume correto de tampão de lise (AL) pipetando cuidadosamente ou usando uma pipeta apropriada.

Nota: Não adicione a QIAGEN Protease (QP) diretamente ao tampão de lise (AL).

4. Incube a 56 °C (± 1 °C) por 10 minutos (± 1 minuto).
5. Centrifugue o tubo de lise (LT) por ≥ 5 segundos à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.
6. Adicione 200 µl de etanol (96 a 100%) ao tubo de lise (LT), feche a tampa e misture bem por agitação em vórtex pulsador por ≥ 15 segundos.
7. Centrifugue o tubo de lise (LT) por ≥ 5 segundos à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.
8. Insira a coluna de centrifugação do QIAamp Mini no VacConnector (VC) no sistema de vácuo. Certifique-se de que a válvula de vácuo principal (entre o sistema de vácuo e o coletor de vácuo) e a válvula de tampa rosqueada (no coletor de vácuo) estejam fechadas. Ligue a bomba de vácuo.

Descarte o tubo de lavagem (WT) (2 ml) no qual a coluna de centrifugação do QIAamp Mini é colocada no blíster.

O vácuo é aplicado apenas no sistema de conexão (se utilizado) e não no coletor de vácuo.

9. Aplique cuidadosamente todo o lisado da etapa 7 na coluna de centrifugação do QIAamp Mini sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta.

Nota: Se processar várias amostras, abra apenas um tubo de lise (LT) de cada vez.

10. Abra a válvula de vácuo principal. Após o lisado passar através da coluna de centrifugação do QIAamp Mini, feche a válvula de vácuo principal e abra a válvula de tampa rosqueada no coletor de vácuo para ventilar o coletor. Feche a válvula de tampa rosqueada depois que o vácuo for liberado do coletor.

Depois de fechar a válvula de vácuo principal, o vácuo é aplicado apenas no sistema de conexão (se utilizado) e não no coletor de vácuo.

Nota: Use a válvula de tampa rosqueada do coletor de vácuo para uma rápida liberação do vácuo.

Nota: Em caso de processamento de várias colunas de centrifugação do QIAamp Mini ao mesmo tempo, recomendamos fechar a VacValve de cada coluna após o lisado ter passado através dela a fim de reduzir a duração desta etapa de vácuo.

Nota: Se o lisado não tiver passado completamente pela membrana após 10 minutos, coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini em um tubo de lavagem (WT) limpo, feche a tampa e centrifugue a $6000 \times g$ (8000 rpm) por 3 minutos ou até o lisado passar completamente. Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini em outro tubo de lavagem (WT) limpo e continue com a etapa 10 do protocolo na página 30.

Nota: Se o lisado continuar a não passar pela membrana durante a centrifugação, descarte a amostra e repita o isolamento e a purificação com um novo material de amostra, começando na etapa 1 na página 29.

11. Aplique 750 µl de tampão de lavagem 1 (AW1) na coluna de centrifugação do QIAamp Mini sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta. Deixe a tampa da coluna aberta e abra a válvula de vácuo principal. Após o tampão de lavagem 1 (AW1) ter passado através da coluna de centrifugação do QIAamp Mini, feche a válvula de vácuo principal e abra a válvula de tampa rosqueada para ventilar o coletor. Feche a válvula de tampa rosqueada depois que o vácuo for liberado do coletor.
12. Aplique 750 µl de tampão de lavagem 2 (AW2) na coluna de centrifugação do QIAamp Mini sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta. Deixe a tampa da coluna aberta e abra a válvula de vácuo principal. Após o tampão de lavagem 2 (AW2) ter passado através da coluna de centrifugação do QIAamp Mini, feche a válvula de vácuo principal e abra a válvula de tampa rosqueada para ventilar o coletor. Feche a válvula de tampa rosqueada depois que o vácuo for liberado do coletor.
13. Feche a tampa da coluna de centrifugação do QIAamp Mini, remova-a do sistema de vácuo e descarte o VacConnector (VC). Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini em um tubo de lavagem (WT) limpo e centrifugue à velocidade máxima (aproximadamente 20.000 x g ou 14.000 rpm) por 3 minutos para secar completamente a membrana.
Nota: A omissão da centrifugação a seco pode resultar na inibição do ensaio posterior.
14. Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini em um tubo de eluição (ET) limpo e descarte o tubo de lavagem (WT) que contém o filtrado. Abra cuidadosamente a tampa da coluna de centrifugação do QIAamp Mini e aplique 50 a 200 µl de tampão de eluição (AE) no centro da membrana. Feche a tampa e incube à temperatura ambiente por 1 minuto. Centrifugue a 6000 x g (8000 rpm) por 1 minuto para eluir o DNA.
Nota: Siga o procedimento de manutenção do sistema de vácuo após realizar este protocolo (para obter mais detalhes, consulte o manual fornecido com o sistema de vácuo).

Protocolo: isolamento e purificação de DNA genômico de amostras de sangue usando uma microcentrífuga ou o QIAcube/QIAcube Connect MDx

Para o isolamento e a purificação de DNA genômico a partir de 200 µl de amostras de sangue total, tratadas com EDTA ou citrato, usando uma microcentrífuga ou automatizado no QIAcube ou QIAcube Connect MDx.

Pontos importantes antes de começar

- O seguinte procedimento fornece instruções para o processamento de uma única amostra de sangue. No entanto, podem ser processadas várias amostras ao mesmo tempo; o número depende da capacidade da microcentrífuga usada.
- O processamento automatizado de 2–10 ou 12 amostras pode ser realizado nos instrumentos QIAcube ou QIAcube Connect MDx.
- Para a automação, siga as instruções das fichas de protocolo (QIAcube) ou na tela do software (QIAcube Connect MDx) e o *Manual do usuário do QIAcube ou QIAcube Connect MDx*.

O que fazer antes de começar

- Equilibre as amostras de sangue à temperatura ambiente e certifique-se de que elas estejam bem misturadas.
- Em caso de formação de um precipitado no tampão de lise (AL), dissolva-o por meio de incubação a 56 °C.
- Certifique-se de que o tampão de lavagem 1 (AW1), o tampão de lavagem 2 (AW2) e a QIAGEN Protease (QP) tenham sido preparados de acordo com as instruções fornecidas em "Preparo de reagentes e tampões", na página 19.
- Equilibre o tampão de eluição (AE) à temperatura ambiente para usá-lo na etapa 15.
- Coloque um bloco de aquecimento a 56 °C para usá-lo na etapa 4.
- Os procedimentos de controle de qualidade na QIAGEN incluem testes funcionais de aprovação de kits para todos os lotes individuais de kits. Portanto, não misture reagentes de lotes de kits diferentes e não combine reagentes individuais de diferentes lotes de reagentes.

Procedimento

- Para o procedimento manual com uma microcentrífuga, siga as etapas 1–15.
- Este procedimento pode ser automatizado em três versões diferentes:
 - Volume de eluição: 100 µl de automação completa com 100 µl de volume de eluição (começando da etapa 1)
 - Volume de eluição: 200 µl de automação completa com 200 µl de volume de eluição (começando da etapa 1)
 - Lise manual: parcialmente automatizada com lise manual fora do equipamento (começando após a etapa 5)

1. Pipete 20 µl de QIAGEN Protease (QP) em um tubo de lise (LT).

Nota: Verifique o prazo de validade da protease reconstituída antes de usá-la.

2. Adicione 200 µl de amostra de sangue ao tubo de lise (LT).

3. Adicione 200 µl de tampão de lise (AL) ao tubo de lise (LT), feche a tampa e misture por agitação em vórtex pulsador por 15 segundos.

Para garantir uma lise eficiente, é essencial que a amostra e o tampão de lise (AL) sejam completamente misturados até obter uma solução homogênea.

Nota: Como o tampão de lise (AL) apresenta uma elevada viscosidade, certifique-se de que seja adicionado o volume correto de tampão de lise (AL) pipetando cuidadosamente ou usando uma pipeta apropriada.

Nota: Não adicione a QIAGEN Protease (QP) diretamente ao tampão de lise (AL).

4. Incube a 56 °C (\pm 1 °C) por 10 minutos (\pm 1 minuto).

5. Centrifugue o tubo de lise (LT) por \geq 5 segundos à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.

Nota: Se a lise manual (etapas 1–5) tiver sido realizada fora do equipamento, as etapas (etapas 6–15) a seguir podem ser automatizadas no QIAcube ou QIAcube Connect MDx usando o protocolo de lise manual.

6. Adicione 200 µl de etanol (96 a 100%) ao tubo de lise (LT), feche a tampa e misture bem por agitação em vórtex pulsador por \geq 15 segundos.

7. Centrifugue o tubo de lise (LT) por ≥ 5 segundos à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.
8. Aplique cuidadosamente todo o lisado da etapa 7 na coluna de centrifugação do QIAamp Mini sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta.

Nota: Se processar várias amostras, abra apenas um tubo de lise (LT) de cada vez.

9. Feche a tampa da coluna de centrifugação do QIAamp Mini e centrifugue a aproximadamente $6000 \times g$ por 1 minuto. Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini em um tubo de lavagem (WT) limpo e descarte o tubo contendo o filtrado.

Nota: Se o lisado não tiver passado completamente pela membrana após a centrifugação a $6000 \times g$ (8000 rpm), centrifugue novamente à velocidade máxima (até $20.800 \times g$) por 1 minuto.

Nota: Se o lisado continuar a não passar pela membrana durante a centrifugação, descarte a amostra e repita o isolamento e a purificação com um novo material de amostra, começando na etapa 1 na página 29.

10. Abra cuidadosamente a coluna de centrifugação do QIAamp Mini e adicione 500 μ l de tampão de lavagem 1 (AW1) sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta.
11. Feche a tampa da coluna de centrifugação do QIAamp Mini e centrifugue a aproximadamente $6000 \times g$ por 1 minuto. Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini em um tubo de lavagem (WT) limpo e descarte o tubo contendo o filtrado.
12. Abra cuidadosamente a coluna de centrifugação do QIAamp Mini e adicione 500 μ l de tampão de lavagem 2 (AW2) sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna de centrifugação do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta.
13. Feche a tampa da coluna de centrifugação do QIAamp Mini e centrifugue à velocidade máxima (aproximadamente $20.000 \times g$ ou 14.000 rpm) por 1 minuto. Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini em um tubo de lavagem (WT) limpo e descarte o tubo contendo o filtrado.

14. Centrifugue à velocidade máxima (aproximadamente 20.000 x g ou 14.000 rpm) por 3 minutos para secar completamente a membrana.

Nota: A omissão da centrifugação a seco pode resultar na inibição do ensaio posterior.

15. Coloque a coluna de centrifugação do QIAamp Mini em um tubo de eluição (ET) limpo e descarte o tubo de lavagem (WT) que contém o filtrado. Abra cuidadosamente a tampa da coluna de centrifugação do QIAamp Mini e aplique 50 a 200 µl de tampão de eluição (AE) no centro da membrana. Feche a tampa e incube à temperatura ambiente por 1 minuto. Centrifugue a aproximadamente 6000 x g (8000 rpm) por 1 minuto para eluir o DNA.

Nota importante: No caso de todos os procedimentos automatizados, remova os eluatos do instrumento diretamente após terminar a execução e armazene-os adequadamente.

Controle de qualidade

De acordo com o sistema de gestão de qualidade com certificado ISO da QIAGEN, cada lote do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit é testado relativamente a especificações predefinidas para garantir uma qualidade consistente do produto.

Limitações

O desempenho do sistema foi estabelecido usando sangue total para isolamento de DNA genômico.

É responsabilidade do usuário validar o desempenho do sistema para quaisquer procedimentos usados em seu laboratório que não sejam abrangidos pelos estudos de desempenho da QIAGEN.

Para minimizar o risco de um impacto negativo nos resultados do diagnóstico, devem ser usados controles adequados para aplicações posteriores. Para validação adicional, recomendamos as diretrizes da Conferência Internacional sobre Harmonização (CIH) de Requisitos Técnicos no documento ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (Validação de Procedimentos Analíticos: Texto e Metodologia).

Quaisquer resultados de diagnóstico gerados devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos ou laboratoriais.

Características de desempenho

Rendimento de DNA purificado

O intervalo linear do rendimento de DNA usando o procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini foi determinado para o sangue de doadores saudáveis com contagens de glóbulos brancos de $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ células/ml (consulte a Figura 6).

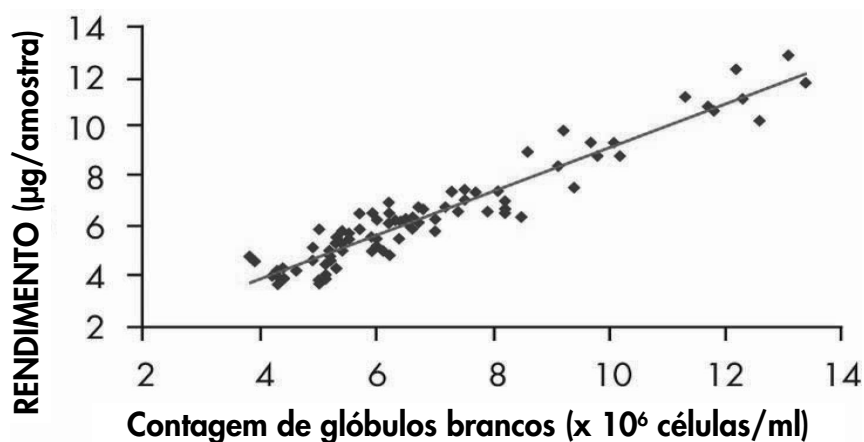


Figura 6. Intervalo linear do rendimento de DNA usando o procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini com um volume de eluição de 200 µl. As contagens de glóbulos brancos de doadores saudáveis foram determinadas e estavam dentro do intervalo de $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ células/ml. O DNA foi purificado a partir de amostras de sangue usando o procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini com um volume de eluição de 200 µl. Foram processadas oitenta e sete amostras em triplicata.

Desempenho em ensaios posteriores

O DNA genômico eluído está pronto a ser usado em diferentes ensaios posteriores, incluindo uma variedade de ensaios posteriores de diagnóstico in vitro (Tabela 2 a Tabela 6). Foram determinados os efeitos do volume de eluição e do volume de eluato usados na PCR sobre o desempenho da PCR (consulte a Tabela 7).

Tabela 2. Tipagem HLA usando ensaios Dynal® AllSet™ SSP HLA-A "Baixa resolução", HLA-B "Baixa resolução", DR "Baixa resolução" e DQ "Baixa resolução"

| Locus HLA A | | Locus HLA B | | Locus HLA DR | | Locus HLA DQ | |
|-------------|----|-------------------------|----|-----------------|----|--------------|----|
| Genótipo | Nº | Genótipo | Nº | Genótipo | Nº | Genótipo | Nº |
| A2/A3 | 2 | B51, B51/B13 ou B51/B27 | 1 | DR1/DR3 | 1 | DQ2 | 1 |
| A3/A1 | 1 | B13/B35 | 1 | DR3 ou DR3/DR13 | 1 | DQ2/DQ3 | 2 |
| A3/A25 | 1 | B8/B27 | 1 | DR3/DR7 | 1 | DQ6 | 1 |
| A2/A24 | 2 | B7/B13 ou B7/B15 | 1 | DR7/DR15 | 2 | DQ2/DQ5 | 1 |
| A1/A2 | 2 | B7/B18 | 1 | DR4/DR15 | 1 | DQ2/DQ5 | 2 |
| A30/A68 | 1 | B7/B44 | 1 | DR4/DR7 | 1 | DQ3 | 1 |
| A2/A32 | 1 | Outro | 0 | DR4 | 1 | DQ3/DQ6 | 2 |
| Outro | 0 | | | DR15 | 1 | Outro | 0 |
| | | | | DR1/DR7 | 1 | | |
| | | | | Outro | 0 | | |

Foi coletado sangue total de doadores individuais, e o DNA genômico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total usando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Usando os ensaios Dynal AllSet® SSP (Thermo Fisher Scientific ou suas subsidiárias), foram identificados alelos em locus no número de indivíduos indicado. Nº: número de indivíduos.

Tabela 3. Genotipagem de Factor V Leiden (FV) usando o kit de detecção de mutações LightCycler® Factor V Leiden

| Genótipo | Número |
|----------------------------|--------|
| Tipo selvagem | 17 |
| FV G16191 A heterozigótico | 13 |
| FV G16191 A homozigótico | 0 |

Foi coletado sangue total de 30 doadores individuais, e o DNA genômico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total usando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Foi determinado o estado alélico no locus FV G16191 A usando o kit de detecção de mutações LightCycler Factor V Leiden (Grupo Roche).

Tabela 4. Genotipagem de Factor V Leiden (FV) usando a análise de ponto final PCR e Pyrosequencing® com o PSQ-96 SNP-Reagent Kit no Pyrosequencing PSQ 96MA

| Genótipo | Número |
|----------------------------|--------|
| Tipo selvagem | 17 |
| FV G16191 A heterozigótico | 13 |
| FV G16191 A homozigótico | 0 |

Foi coletado sangue total de 30 doadores individuais, e o DNA genômico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total usando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Foi determinado o estado alélico no locus FV G1691 A usando a análise de ponto final PCR e Pyrosequencing com o PSQ-96 SNP-Reagent Kit no Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabela 5. Genotipagem de protrombina (PT) usando a análise de ponto final PCR e Pyrosequencing com o PSQ-Q96 SNP Reagent Kit no Pyrosequencing PSQ 96MA

| Genótipo | Número |
|---------------------------|--------|
| Tipo selvagem | 30 |
| PT G20210A heterozigótico | 0 |
| PT G20210A homozigótico | 0 |

Foi coletado sangue total de 30 doadores individuais, e o DNA genômico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total usando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Foi determinado o estado alélico no locus PT G20210A usando a análise de ponto final PCR e Pyrosequencing com o PSQ-96 SNP Reagent Kit no Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabela 6. Análise de polimorfismos de ApoE T112C e C158T usando PCR de ponto final, com sequenciamento de amplicon usando o BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit e separação no ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer

| Genótipo | Número |
|-----------|--------|
| ApoE*3/*3 | 5 |
| ApoE*3/*4 | 5 |
| Outro | 0 |

Foi coletado sangue total de 10 doadores individuais, e o DNA genômico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total usando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Análise de polimorfismos de ApoE T112C e C158T usando PCR de ponto final, com sequenciamento de amplicon usando o BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit e separação no ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific ou suas subsidiárias).

Tabela 7. Efeitos do volume de eluição e do volume de eluato usados na PCR sobre o desempenho da PCR

| Volume de eluição | Volume de eluato por 50 µl de PCR* | | |
|-------------------|------------------------------------|------|-------|
| | 2 µl | 5 µl | 10 µl |
| 50 µl | 100% | 100% | 100% |
| 100 µl | 100% | 100% | 97% |
| 200 µl | 100% | 100% | 100% |

* Os valores mostram as taxas de acerto por PCR e representam a média de 48 amostras.

Estabilidade do eluato

Nos testes de conservação com eluatos gerados usando o QIAamp DNA Blood Mini Kit, um kit de laboratório de uso geral com tecnologia idêntica, foi demonstrado que o DNA eluído das QIAamp Mini Spin Columns em Buffer AE permaneceu estável por 8 anos quando armazenado entre 2 e 8 °C ou entre -30 e -15 °C (Figura 7). No entanto, estão sendo realizados estudos de longo prazo sobre a estabilidade dos eluatos obtidos com o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

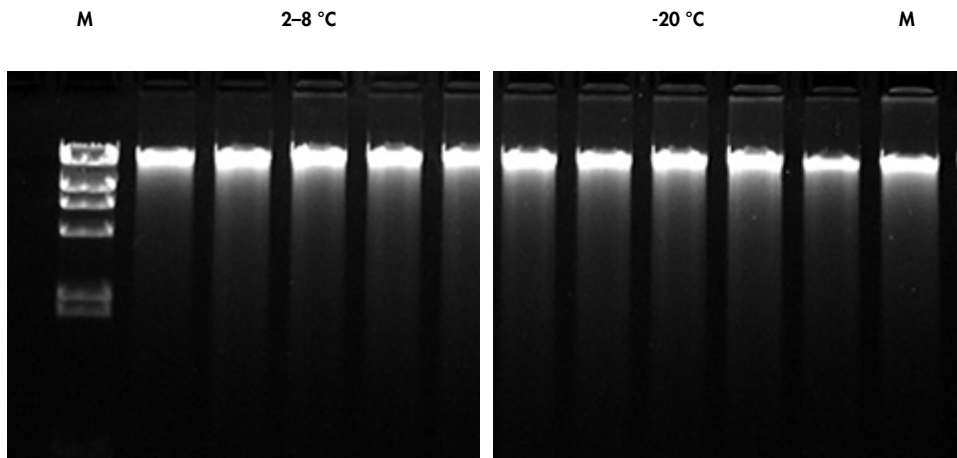






















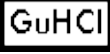






Figura 7. Estabilidade de longo prazo de DNA isolado e purificado usando colunas de centrifugação do QIAamp Mini. O DNA foi purificado usando o QIAamp DNA Blood Mini Kit, eluído em 200 µl de Buffer AE e armazenado a 2-8 °C ou a -20 °C por 8 anos. As amostras de DNA foram analisadas em gel de agarose corado com brometo de etídio. M: marcador.

Símbolos

Os seguintes símbolos podem aparecer nas instruções de uso ou na embalagem e na etiqueta:

| Símbolo | Definição do símbolo |
|---|--|
|  | Contém reagentes suficientes para <N> reações |
|  | Data de validade |
|  | Dispositivo médico de diagnóstico in vitro |
|  | Na chegada |
|  | Abrir no momento da entrega; conservar as colunas de centrifugação do QIAamp Mini a 2–8 °C |
|  | Número de referência |
|  | Número de lote |
|  | Número do material (isto é, etiquetagem do componente) |
|  | Componentes |
|  | Contém |
|  | Número |
|  | Número global de item comercial |
|  | R representa a revisão das Instruções de uso e n representa o número de revisão |
|  | Limites de temperatura |

| Símbolo | Definição do símbolo |
|---|--|
|  | Fabricante |
|  | Consultar as instruções de uso |
|  | Volume |
|  | Anotar a data atual depois de adicionar etanol ao frasco |
|  | Adição |
|  | Liofilizado |
|  | Reconstituir em |
|  | Etanol |
|  | Cloridrato de guanidina |
|  | Subtilisina |
|  | Leva a |
|  | Consultar as instruções de uso |
|  | Nota importante |

Informações para pedidos

| Produto | Conteúdo | Nº de ref. |
|------------------------------------|---|-------------------|
| QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50) | Para 50 preparos de DNA: colunas de centrifugação do QIAamp Mini, VacConnectors, QIAGEN Protease, reagentes, tampões e tubos de coleta | 61104 |
| Produtos relacionados | | |
| QIAcube Connect MDx* | Instrumento e 1 ano de garantia em peças e mão de obra | 9003070 |
| Acessórios | | |
| QIAvac 24 Plus vacuum manifold† | Coletor de vácuo para processamento de 1–24 colunas de centrifugação: coletor de vácuo QIAvac 24 Plus, plugues luer, acoplamentos rápidos | 19413 |
| Vacuum Pump† | Bomba de vácuo universal | 84020 |
| VacConnectors† | 500 conectores descartáveis para uso com colunas de centrifugação do QIAamp em conectores luer | 19407 |
| Rotor Adapters | Para 240 preparos: 240 adaptadores de rotor descartáveis e 240 tubos de eluição (1,5 ml); para uso com o QIAcube | 990394 |
| Rotor Adapter Holder | Suporte para 12 adaptadores de rotor descartáveis; para uso com o QIAcube | 990392 |

| Produto | Conteúdo | Nº de ref. |
|---------------------------------|---|-------------------|
| Sample Tubes CB | 1000 tubos cônicos com tampa rosqueada sem base contornada (2 ml) para uso com o QIAcube e QIAcube Connect MDx | 990382 |
| Shaker Rack Plugs | Para carregar o rack do agitador do QIAcube | 9017854 |
| Reagent Bottles, 30 ml | Frascos de reagente (30 ml) com tampas; embalagem de 6; para uso com o QIAcube | 990393 |
| Filter-Tips, 1000 µl | Ponteiras com filtro descartáveis, no rack; (8 x 128). Para uso com o QIAcube | 990352 |
| Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore | Ponteiras com filtro descartáveis, orifício largo, no rack; (8 x 128); não são necessárias para todos os protocolos. Para uso com o QIAcube | 990452 |
| Filter-Tips, 200 µl | Ponteiras com filtro descartáveis, no rack; (8 x 128). Para uso com os instrumentos QIAcube e QIAsymphony SP/AS | 990332 |

* O QIAcube Connect MDx não está disponível em todos os países. Para obter mais detalhes, entre em contato com a assistência técnica da QIAGEN.

† Para uso com protocolos de vácuo.

Para obter informações de licenciamento atualizadas e isenções de responsabilidade específicas do produto, consulte o manual do usuário ou o manual do kit QIAGEN correspondente. Os manuais do usuário e os manuais de kits QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados à Assistência Técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Histórico de revisões do documento

| Revisão | Descrição |
|----------------|--|
| R2, 01/2021 | <p>Atualizações das seções Purificação automatizada no QIAcube/QIAcube Connect MDx, Avisos e precauções e Protocolo: isolamento e purificação de DNA genômico de amostras de sangue usando uma microcentrífuga ou o QIAcube/QIAcube.</p> <p>Foram adicionadas referências ao QIAcube Connect MDx e seus acessórios.</p> <p>Foi removida a referência ao CD na seção Conteúdo do kit.</p> <p>Alterações de layout e editoriais.</p> |

Esta página foi deixada em branco intencionalmente.

Esta página foi deixada em branco intencionalmente.

Contrato de licença limitada para o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

O uso desse produto implica a concordância por parte de qualquer comprador ou usuário do produto com os seguintes termos:

1. O produto só pode ser usado conforme os protocolos facultados com o mesmo e este manual e apenas com componentes contidos no painel. A QIAGEN não concede licença a qualquer uma de suas propriedades intelectuais para usar ou incorporar os componentes incluídos neste painel com quaisquer componentes não incluídos no mesmo, exceto conforme descrito nos protocolos facultados com o produto, neste manual e nos protocolos adicionais, disponíveis em www.qiagen.com. Alguns desses protocolos adicionais foram fornecidos pelos usuários da QIAGEN para os usuários da QIAGEN. Esses protocolos não foram testados por completo nem otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não garante nem fornece garantias de que eles não infringam os direitos de terceiros.
2. A não ser em relação às licenças expressamente indicadas, a QIAGEN não garante que este painel e/ou seu(s) uso(s) não infringem os direitos de terceiros.
3. Este painel e seus componentes estão licenciados para uso único e não podem ser reutilizados, reconstruídos ou revendidos.
4. A QIAGEN renuncia especificamente a quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, à exceção das expressamente indicadas.
5. O comprador e o usuário do painel concordam em não realizar nem permitir que outra pessoa realize qualquer etapa que possa levar a ou facilitar qualquer um dos atos proibidos acima. A QIAGEN poderá fazer cumprir as proibições deste Acordo de licença exclusivo em qualquer tribunal e recuperar todas as custas processuais, incluindo os encargos com os advogados, em qualquer ação para fazer cumprir o Acordo de licença exclusivo ou quaisquer direitos de propriedade intelectual relacionados com o painel e/ou seus componentes.

Para obter os termos de licença atualizados, visite www.qiagen.com.

Marcas registradas: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (Grupo QIAGEN); BD®, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette®, Greiner Bio-One® (Greiner Bio-One GmbH); Eppendorf®, Thermomixer® (Eppendorf AG); LightCycler® (Grupo Roche); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.); ABI PRISM®, *AllSer*™, BigDye®, Dyna® (Thermo Fisher Scientific ou suas subsidiárias). Os nomes registrados, marcas registradas etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tal, devem ser considerados protegidos pela lei.

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, todos os direitos reservados.

Pedidos www.qiagen.com/shop | Assistência Técnica support.qiagen.com | Site www.qiagen.com