

Dezembro 2017

Folha de protocolo QIASymphony[®] SP

Protocolo DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP

Este documento é a *Folha de protocolo do QIASymphony SP: DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP* para o QIASymphony DSP DNA Mini Kit, versão 1, R2.

Informações gerais

O QIASymphony DSP DNA Kit destina-se a utilização em diagnóstico in vitro.

Este protocolo destina-se à purificação de ADN genómico e mitocondrial total proveniente de camada leucoplaquetária (buffy coat) recém-colhida ou congelada utilizando o QIASymphony SP e o QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (cat. n.º 937236)
Material de amostra	Camada leucoplaquetária (buffy coat) (anticoagulada com EDTA, citrato ou heparina)
Nome do protocolo	DNA_BC_200_V7_DSP
Conjunto de controlo do ensaio predefinido	ACS_BC_200_V7_DSP
Editável	Volume de eluição: 200 µl, 300 µl, 400 µl
Versão de software necessária	Versão 4.0 ou posterior

Bandeja "Sample" (Amostra)

Tipo de amostra	Camada leucoplaquetária (buffy coat) (anticoagulada com EDTA, citrato ou heparina)
Volume da amostra	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado; para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubos de amostra primários	n/a
Tubos de amostra secundários	Para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Inserores	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado; para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = não aplicável.

Bandeja "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

Posição A1 e/ou A2	Cartucho de reagentes
Posição B1	n/a
Suporte de pontas 1-17	Pontas com filtro descartáveis, 200 µl ou 1500 µl
Suporte de caixa de unidades 1-4	Caixas de unidades contendo cartuchos de preparação de amostras ou mangas de 8 barras

n/a = não aplicável.

Bandeja “Waste” (Resíduos)

Suporte de caixa de unidades 1-4	Caixas de unidades vazias
Suporte de saco de resíduos	Saco de resíduos
Suporte do frasco de resíduos líquidos	Frasco de resíduos líquidos vazio

Bandeja “Eluate” (Eluato)

Suporte de eluição (recomendamos a utilização da ranhura 1, posição de arrefecimento)	Para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
---	---

Material de plástico necessário

	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*	Três lotes, 72 amostras*	Quatro lotes, 96 amostras*
Pontas com filtro descartáveis, 200 µl††	2	2	2	2
Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl††	110	212	314	416
Cartuchos de preparação de amostras§	18	36	54	72
Mangas de 8 barras¶	3	6	9	12

* A utilização de menos de 24 amostras por lote diminui o número de pontas com filtro descartáveis necessárias por ensaio.

† Estão disponíveis 32 pontas com filtro/suporte de pontas.

‡ O número de pontas com filtro necessárias inclui pontas com filtro para 1 inventariação por cartucho de reagente.

§ Estão disponíveis 28 cartuchos de preparação de amostras/caixa de unidades.

¶ Estão disponíveis doze mangas de 8 barras/caixa de unidades.

Nota : O número de pontas com filtro fornecido pode diferir dos números visualizados no ecrã tátil, dependendo das definições. Recomendamos o carregamento do número máximo possível de pontas.

Volume de eluição

O volume de eluição é selecionado no ecrã tátil. Dependendo do tipo de amostra e do conteúdo de ADN, pode haver uma variação do volume de eluato final que pode ser até 15 µl inferior ao volume selecionado. Devido ao facto de o volume de eluato poder variar, recomendamos que o volume real de eluato seja verificado aquando da utilização de um sistema de configuração de ensaio automatizado que não verifique o volume de eluato antes da transferência. Se a eluição for feita em volumes menores, a concentração final de ADN aumenta, mas o rendimento sofre uma ligeira redução. Recomendamos que seja utilizado um volume de eluição apropriado para a aplicação pretendida a jusante.

Preparação do material de amostra

Ao trabalhar com substâncias químicas, usar sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (safety data sheets, SDS) apropriadas, disponíveis no fornecedor do produto.

Ponto importante antes de iniciar

- As partículas magnéticas do QIAasymphony podem copurificar o ARN, se este estiver presente na amostra. Para minimizar o conteúdo de ARN na amostra, adicionar RNase A à amostra antes de iniciar o procedimento. A concentração final de RNase A deverá ser de 2 mg/ml.

Camada leucoplaquetária

A camada leucoplaquetária (buffy coat) é uma fração de sangue total enriquecida com leucócitos. A eficiência do enriquecimento com leucócitos depende do procedimento utilizado para preparar a camada leucoplaquetária (buffy coat) e da exatidão com que essa camada é extraída. Preparar a camada leucoplaquetária (buffy coat) centrifugando amostras de sangue total que contenham um anticoagulante padrão (EDTA, citrato ou heparina) a 900–1100 x g, durante 10 minutos à temperatura ambiente (15–25 °C). Após a centrifugação, é possível distinguir 3 frações diferentes: a camada transparente superior é plasma, a camada intermédia é a camada leucoplaquetária (buffy coat), com leucócitos concentrados, e a camada inferior contém eritrócitos concentrados. Deverá ser colhido aproximadamente 1 ml de fração contendo leucócitos em 10 ml de sangue total centrifugado, o que, em média, produz um enriquecimento de 5–6x. Por exemplo, 10 ml de sangue total com uma contagem de glóbulos brancos de 6×10^6 glóbulos/ml tem como resultado 1 ml de camada leucoplaquetária (buffy coat). Partindo do princípio de que os glóbulos brancos foram enriquecidos 5x, o resultado são 3×10^7 glóbulos/ml. Por isso, num protocolo que utiliza 200 µl de camada leucoplaquetária (buffy coat), serão utilizados 6×10^6 glóbulos.

Para evitar sobrecarregar o procedimento de purificação do ADN, não preparar amostras de camada leucoplaquetária (buffy coat) com um enriquecimento >10x. Se as amostras de camada leucoplaquetária tiverem um enriquecimento >10x, diluir as amostras até obter um enriquecimento igual ou inferior a 10x com PBS ou utilizar menos material inicial no procedimento de purificação do ADN.

As amostras de camada leucoplaquetária (buffy coat) podem ser utilizadas imediatamente ou armazenadas a –20 °C ou –70 °C para purificação do ADN numa data posterior. As amostras congeladas devem ser descongeladas rapidamente em banho-maria a 37 °C com agitação ligeira, para assegurar a correta homogeneização, devendo depois ser estabilizadas à temperatura

ambiente (15–25 °C) antes de iniciar o procedimento. Para assegurar uma transferência fiável da amostra, evitar produzir espuma nos tubos de amostras. Tentar evitar a formação de coágulos de sangue nas amostras e, se necessário, transferir a amostra sem coágulos para um tubo novo.

Histórico de revisões

Histórico de revisões do documento	
12-2017 R2	Atualização para a versão 5.0 do software QIASymphony

Para informações atualizadas sobre licenciamento e limitações de responsabilidade específicas do produto, consultar os respetivos manual do utilizador ou manual do kit QIAGEN®. Os manuais do utilizador e os manuais do kit QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Marcas comerciais: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Grupo QIAGEN). Os nomes registados, as marcas comerciais etc. utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados como tal, não devem ser considerados como não protegidos por lei.
12/2017 HB-0977-S05-002 © 2017 QIAGEN, todos os direitos reservados.

Encomendas www.qiagen.com/shop | Assistência técnica support.qiagen.com | Website www.qiagen.com