

Dezembro 2017

Ficha de protocolo do QIASymphony[®] SP

Protocolo DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP

Este documento é DNA_Buffy_Coat_400_V6_DSP *QIASymphony SP Protocol Sheet*, R3, do QIASymphony DSP DNA Mini Kit, versão 1.

Informações gerais

O kit QIAAsymphony DSP DNA destina-se ao uso diagnóstico in vitro.

Este protocolo destina-se à purificação do DNA total genômico e mitocondrial de camada leucoplaquetária fresca ou congelada usando o QIAAsymphony SP e o QIAAsymphony DSP DNA Midi Kit.

Kit	QIAAsymphony DSP DNA Midi Kit (ref. 937255)
Material da amostra	Camada leucoplaquetária (EDTA, citrato ou heparina anticoagulante)
Nome do protocolo	DNA_BC_400_V6_DSP
Conjunto padrão de controle de teste	ACS_BC_400_V6_DSP
Editável	Volume de eluição: 200 µl, 400 µl
Versão de software necessária	Versão 4.0 ou superior

Gaveta "Sample" (Amostra)

Tipo de amostra	Camada leucoplaquetária (EDTA, citrato ou heparina anticoagulante)
Volume de amostra	Depende do tipo de tubo de amostra usado; para mais informações, acesse www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubos de amostra primários	n/a
Tubos de amostra secundários	Para mais informações, acesse www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Introdutores	Depende do tipo de tubo de amostra usado; para mais informações, acesse www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

n/a = não aplicável.

Gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e materiais de consumo)

Posição A1 e/ou A2	Cartucho de reagentes
Posição B1	n/a
Suporte de rack para ponteiras, 1-17	Ponteiras com filtro descartáveis, 200 µl ou 1500 µl
Suporte de caixa unitária, 1-4	Caixas unitárias com cartuchos de preparo de amostra ou tampas de 8 hastes

n/a = não aplicável.

Gaveta "Waste" (Resíduos)

Suporte de caixa unitária, 1-4	Caixas unitárias vazias
Suporte de saco de resíduos	Saco de resíduos
Suporte de recipiente de resíduos líquidos	Recipiente de resíduos líquidos vazio

Gaveta "Eluate" (Eluído)

Rack de eluição (recomendamos o uso da fenda 1 na posição de resfriamento)	Para mais informações, acesse www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
--	--

Materiais plásticos necessários

	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*	Três lotes, 72 amostras*	Quatro lotes, 96 amostras*
Ponteiras com filtro descartáveis, 200 µl ^{†‡}	4	4	4	8
Ponteiras com filtro descartáveis, 1500 µl [‡]	110	212	314	424
Cartuchos de preparação de amostras [§]	18	36	54	72
Tampas de 8 hastes [¶]	3	6	9	12

* Utilizar menos de 24 amostras por lote reduz o número de ponteiras com filtro descartáveis necessárias por execução de teste.

[†] Há 32 ponteiras com filtro por rack para ponteiras.

[‡] O número necessário de ponteiras com filtro inclui as ponteiras com filtro para 1 verificação de inventário por cartucho de reagentes.

[§] Há 28 cartuchos de preparo de amostra por caixa unitária.

[¶] Há doze tampas de 8 hastes por caixa unitária.

Nota : Dependendo das configurações, a quantidade de ponteiras com filtro fornecida pode diferir da quantidade exibida na tela sensível ao toque. Recomendamos carregar o maior número possível de ponteiras.

Volume de eluição

O volume de eluição é selecionado na tela sensível ao toque. Dependendo do tipo de amostra e do conteúdo de DNA, o volume final de eluato pode variar até 15 µl menos que o volume selecionado. Devido ao fato do volume de eluato poder variar, recomendamos verificar o volume real do eluato ao usar um sistema de configuração de ensaio automatizado que não verifique o volume de eluato antes da transferência. A eluição em volumes menores aumenta a concentração final de DNA, mas reduz ligeiramente o rendimento. Recomendamos utilizar um volume de eluição adequado para a aplicação da jusante pretendida.

Preparo de material de amostra

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre utilize um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (Safety data Sheets, SDS) disponíveis no fornecedor do produto.

Ponto importante antes de começar

- As partículas magnéticas do QIASymphony podem copurificar o RNA se ele estiver presente na amostra. Para minimizar o conteúdo de RNA na amostra, adicione RNase A à amostra antes de iniciar o procedimento. A concentração final de RNase A deve ser de 2 mg / ml.

Camada leucoplaquetária

A camada leucoplaquetária é uma fração enriquecida de leucócitos do sangue total. A eficiência do enriquecimento de leucócitos depende do procedimento usado para preparar a camada leucoplaquetária e da precisão com que a camada leucoplaquetária é extraída. Prepare a camada leucoplaquetária centrifugando as amostras de sangue total contendo um anticoagulante padrão (EDTA, citrato ou heparina) em 900-1100 x g por 10 minutos à temperatura ambiente (15-25 °C). Após a centrifugação, 3 diferentes frações são distinguíveis: a camada superior clara é o plasma; a camada intermediária é a camada leucoplaquetária, contendo leucócitos concentrados; e a camada inferior contém eritrócitos concentrados. Aproximadamente 1 ml de fração contendo leucócitos deve ser colhida de 10 ml do sangue total centrifugado, o que, em média, dá um enriquecimento de 5-6x. Por exemplo, 10 ml de sangue total com uma contagem de glóbulos brancos de 6×10^6 células/ml resulta em 1 ml de camada leucoplaquetária. Assumindo um enriquecimento de 5x de glóbulos brancos, isto resulta em 3×10^7 células / ml. Portanto, em um protocolo que usa 400 µl de camada leucoplaquetária, $1,2 \times 10^7$ células serão usadas.

Para evitar sobrecarregar o procedimento de purificação do DNA, não prepare amostras de camada leucoplaquetária com enriquecimento > 10x. Se as amostras de camada leucocitária tiverem enriquecimento > 10x, dilua as amostras para ter um enriquecimento de 10x ou menos com PBS ou use menos material de partida no procedimento de purificação de DNA.

Amostras de camada leucoplaquetária podem ser usadas imediatamente ou armazenadas a -20 °C ou -70 °C para purificação do DNA em uma data posterior. Amostras congeladas devem ser descongeladas rapidamente em banho-maria a 37 °C com agitação moderada, para garantir uma mistura completa e, em seguida, equilibradas à temperatura ambiente (15-25 °C) antes de iniciar o procedimento. Para garantir uma transferência de amostra confiável, evite gerar espuma nos

tubos de amostra. Tente evitar coágulos sanguíneos nas amostras e, se necessário, transfira a amostra sem coágulos para um novo tubo.

Histórico de revisão

Histórico de revisão do documento	
R3 12/2017	Atualização para o software QIASymphony versão 5.0

Para informações atualizadas sobre licenças e avisos legais específicos de produtos, consulte o manual do kit da QIAGEN® pertinente ou o manual do usuário. Os manuais de instruções dos kits da QIAGEN e os manuais do usuário estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados aos Serviços técnicos da QIAGEN ou ao distribuidor local.

Marcas registradas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Os nomes registrados, marcas registradas, etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tais, não devem ser considerados como não protegidos pela lei.
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, todos os direitos reservados.

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