

Manual do QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit



Versão 2



Para utilização em diagnóstico in vitro



61104



1071108PT



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

Tel: +49-2103-29-0

R2



1071108PT



Tecnologias de amostragem e ensaio da QIAGEN

A QIAGEN é o principal fornecedor de tecnologias inovadoras de amostragem e ensaio, permitindo o isolamento e a detecção do conteúdo de qualquer amostra biológica. Os produtos e serviços avançados e de elevada qualidade da nossa empresa são garantia de sucesso, desde a amostra ao resultado.

A QIAGEN é uma empresa de referência em matéria de:

- Purificação de ADN, ARN e proteínas
- Ensaio de ácidos nucleicos e proteínas
- Investigação em microARN e ARNi
- Automatização de tecnologias de amostragem e ensaio

A nossa missão permitir-lhe-á alcançar o sucesso, bem como resultados notáveis. Para obter mais informações, visite www.qiagen.com.

Conteúdo

Finalidade da utilização	4
Resumo e explicação	4
Lise das células do sangue	5
Ligação do ADN genómico à membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini	5
Purificação automatizada	6
Materiais fornecidos	8
Conteúdo do kit	8
Materiais necessários, mas não fornecidos	9
Dados de segurança	10
Armazenamento e manuseamento de reagentes	12
Manuseamento e armazenamento de amostras	12
Notas Importantes	15
Pontos importantes antes de iniciar o protocolo	15
Preparação de reagentes e tampões	15
Manuseamento das colunas para centrifugação do QIAamp Mini	16
Eluição do ADN genómico	17
Rendimento e qualidade do ADN genómico	17
Montagem do sistema de vácuo QIAvac 24 Plus	18
Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico de amostras de sangue utilizando um sistema de vácuo	20
Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico de amostras de sangue utilizando um sistema de microcentrifugação	24
Controlo de qualidade	27
Características de desempenho	27
Desempenho em ensaios downstream	28
Símbolos	33
Referências	34
Informações de contacto	35
Informações para encomenda	36

Finalidade da utilização

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

O produto destina-se a utilizadores profissionais, tais como técnicos e médicos com formação em técnicas de biologia molecular.

O QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit foi concebido para utilização em diagnóstico in vitro.

Resumo e explicação

O QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit utiliza uma tecnologia muito bem estabelecida que permite um rápido e fácil isolamento e purificação do ADN genómico, a partir de 200 µl de sangue total.

Os procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini, que foram concebidos de forma a permitir o processamento simultâneo de várias amostras de sangue, produzem um ADN puro, pronto para ser utilizado. Estes procedimentos são apropriados para serem utilizados com amostras de sangue total, fresco ou congelado, tratado com citrato ou EDTA.

Os procedimentos de centrifugação e vácuo simples 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[®] para uma maior padronização e facilidade de utilização (consultar a página 6).

Não é necessária a separação prévia dos leucócitos. Os procedimentos não requerem extracção com fenol/clorofórmio, nem precipitação com álcool e exigem apenas uma interacção mínima com o utilizador, permitindo uma manipulação segura de amostras potencialmente infecciosas. Os procedimentos são concebidos para minimizar a contaminação cruzada amostra a amostra. O ADN purificado está pronto para ser utilizado em PCR ou outras aplicações ou, alternativamente, pode ser armazenado entre -25 °C e -15 °C para utilização posterior.

Princípios do procedimento

O procedimento para cada QIAamp DSP DNA Blood Mini é composto por 4 passos:

- Lise das células nas amostras de sangue
- Ligação do ADN genómico do lisado de células à membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini
- Lavagem da membrana
- Eluição do ADN genómico da membrana

Este manual contém protocolos para 2 procedimentos alternativos do QIAamp DSP DNA Blood Mini: o procedimento utilizando centrifugação, que requer uma centrífuga e o procedimento de vácuo, que requer uma centrífuga e um sistema de vácuo (consultar o mapa de fluxo, página 7).

Lise das células do sangue

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

Ligação do ADN genómico à membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini

Para otimizar a ligação do ADN genómico à membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini, primeiramente adiciona-se etanol ao lisado. Cada lisado é então aplicado à coluna para centrifugação do QIAamp Mini e o ADN genómico é adsorvido sobre a membrana de sílica, à medida que o lisado passa pela coluna por aplicação de vácuo ou pela força centrífuga.

Purificação automatizada

A purificação do ADN utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit pode ser totalmente automatizada no QIAcube. O inovador QIAcube usa tecnologia avançada para processar colunas para centrifugação QIAGEN, permitindo uma integração regular de uma preparação de amostras automatizada, de baixa produção, nos procedimentos de laboratório. A preparação de amostras com o QIAcube segue os mesmos passos do procedimento manual (ou seja, lise, ligação, lavagem e eluição), permitindo usar o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit para purificação de ADN de elevada qualidade.

Para mais informações sobre o procedimento automatizado, consultar a folha de protocolo relevante disponível em www.qiagen.com/MyQIAcube. As folhas de protocolo actualizadas podem ser descarregadas gratuitamente ou então obtidas contactando o departamento de assistência técnica da QIAGEN (consultar a pág. 35).

Em caso de automatização do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit no instrumento QIAcube, o instrumento poderá processar menos do que 50 amostras devido a volumes mortos, evaporação e consumo adicional de reagente por pipetagem automatizada. A QIAGEN apenas garante 50 preparações de amostras com utilização manual do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



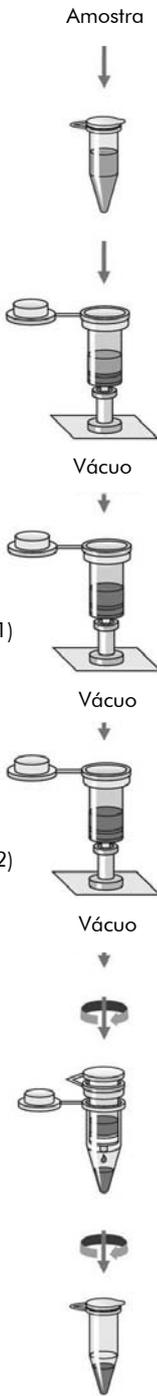
Figura 1. O QIAcube.

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

Procedimento de centrifugação do QIAamp



Procedimento de vácuo do QIAamp



Ler os protocolos (páginas 20 e 24) com atenção antes de começar

Dentro do LT, adicionar 20 μl da QP, 200 μl de amostra e 200 μl de AL

Agitar com vórtex durante 15 segundos

Incubar 10 minutos (\pm 1 minuto) a 56 °C (\pm 1 °C)

Adicionar 200 μl de etanol

Agitar com vórtex durante 15 segundos

Transferir o lisado para a coluna para centrifugação do QIAamp Mini

Procedimento de centrifugação: centrifugar 1 minuto a 6000 x g

Procedimento de vácuo: aplicar vácuo

Procedimento de centrifugação: colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini num WT novo, adicionar 500 μl de AW1 e centrifugar 1 minuto a 6000 x g

Procedimento de vácuo: adicionar 750 μl de AW1 e aplicar vácuo

Procedimento de centrifugação: colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini num WT novo, adicionar 500 μl de AW2 e centrifugar 1 minuto à máxima velocidade (aproximadamente 20 000 x g ou 14 000 rpm)

Procedimento de vácuo: adicionar 750 μl de AW2 e aplicar vácuo

Colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini num WT

Centrifugar 3 minutos à máxima velocidade (aproximadamente 20 000 x g ou 14 000 rpm)

Colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini no ET

Adicionar 50–200 μl de AE e incubar 1 minuto

Centrifugar 1 minuto a 6000 x g

ADN viral ou genómico puro

Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
N.º de catálogo			61104
Número de preparações			50*
Coluna para centrifugação do QIAamp Mini	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (Colunas QIAamp Mini Spin com tubos de lavagem) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Tubos de eluição) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors (Vácuo Conector)		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 [†] (concentrate) (Tampão de lavagem 1 [concentrado])		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 [‡] (concentrate) (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 [§] (Protease QIAGEN)		1 frasco
	CD		1
	Manual		1

* Em caso de automatização do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit no instrumento QIAcube, o instrumento poderá processar menos do que 50 amostras devido a volumes mortos,

evaporação e consumo adicional de reagente por pipetagem automatizada. A QIAGEN apenas garante 50 preparações de amostras com utilização manual do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

† Contém hidrócloro de guanidina. Não compatível com desinfetantes que contenham lixívia. Para obter mais informações, consulte a página 11.

‡ Contém azida de sódio como conservante.

§ Volume de ressuspensão 1,2 ml. Consulte "Preparação da Protease QIAGEN" na página 15.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Ao trabalhar com produtos químicos, usar sempre equipamento de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (MSDS) adequadas, disponíveis junto do fornecedor do produto.

Para procedimentos de centrifugação e vácuo

- Etanol (96–100%)
- Pipetas* e pontas de pipetas (para evitar a contaminação cruzada, é recomendada a utilização de pontas de pipetas com barreiras para aerossóis)
- Luvas descartáveis
- Bloco de aquecimento* para a lise das amostras a 56 °C (recomenda-se o Sistema Termoagitador Eppendorf® com bloco térmico para micro tubos de teste de 1,5 ml†)
- Microcentrífuga*
- Cilindro graduado (50 ml)
- Vórtex

Somente para o procedimento de vácuo

- O sistema de vácuo QIAvac 24 Plus (QIAvac 24 Plus, n.º de cat. 19413, QIAvac Connecting System, n.º de cat. 19419 e Vacuum Pump, n.º de cat. 84020) ou qualquer sistema de vácuo geral equivalente para laboratório.

* Para assegurar que as amostras são processadas adequadamente utilizando os procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini, recomenda-se que os aparelhos (por ex., pipetas e blocos de aquecimento) sejam calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

† Não se trata de uma lista completa de fornecedores nem inclui muitos distribuidores importantes de produtos biológicos.

Dados de segurança

Ao trabalhar com produtos químicos, usar sempre equipamento de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para obter mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (MSDS) adequadas. Estas estão disponíveis online em formato PDF, prático e compacto, no endereço www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx onde é possível encontrar, visualizar e imprimir as MSDS para cada kit da QIAGEN e respectivos componentes.

PRECAUÇÃO: NÃO ADICIONAR lixívia ou soluções ácidas directamente sobre os resíduos resultantes da preparação das amostras.

O Tampão de Lise (AL) e o Tampão de Lavagem 1 (AW1) contêm hidrócloro de guanidina que pode formar compostos altamente reactivos quando misturados com lixívia. Em caso de derrame de algum líquido contendo os tampões referidos, limpar com detergentes apropriados para utilização em laboratório e água. Se o líquido derramado contiver agentes potencialmente infecciosos, limpar a área afectada primeiramente com detergente apropriado para utilização em laboratório e água e, depois, com 1% (v/v) de solução de hipoclorito de sódio. Se os recipientes do tampão estiverem danificados ou apresentarem fugas, utilizar luvas e óculos de protecção ao descartar os recipientes para evitar acidentes pessoais e lesões em terceiros.

A QIAGEN não tem testado os resíduos líquidos produzidos pelos procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini quanto a materiais infecciosos residuais. A contaminação dos resíduos líquidos com materiais infecciosos residuais é improvável, mas não pode ser completamente excluída. Por conseguinte, os resíduos líquidos têm de ser considerados infecciosos e têm de ser manuseados e eliminados de acordo com os regulamentos de segurança locais.

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

Tampão de Lise (AL) e Tampão de Lavagem 1 (AW1)



Contém hidrocloreto de guanidina: nocivo, irritante. Frases de segurança e risco:* R22-36/38, S13-26-36-46.

Protease QIAGEN (QP)



Contém subtilisina: sensibilizador, irritante. Frases de segurança e risco:* R37/38-41-42, S22-24-26-36/37/39-46.

Informação durante 24 horas para casos de emergência

Podem ser obtidas informações médicas para casos de emergência em inglês, francês e alemão durante 24 horas por dia através de:

Centro Mainz de informação sobre venenos, Alemanha

Tel: +49-6131-19240

* R22: Nocivo por ingestão; R36/38: Irritante para os olhos e pele; R37/38 Irritante para as vias respiratórias e para a pele; R41: Riscos de graves lesões oculares; R42: Pode causar sensibilização por inalação; S13: Manter afastado de alimentos e bebidas, incluindo os dos animais; S22: Não respirar as poeiras; S24: Evitar o contacto com a pele; S26: Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista; S36: Usar vestuário de protecção adequado; S36/37/39: Usar vestuário de protecção adequado; S46: Em caso de ingestão, consultar imediatamente o médico e mostrar-lhe a embalagem ou o rótulo.

Armazenamento e manuseamento de reagentes

As colunas para centrifugação do QIAamp Mini devem ser armazenadas entre 2 e 8 °C após entrega e podem ser utilizadas até à data de validade indicada na caixa do kit.

Todos os tampões podem ser armazenados à temperatura ambiente (15–25 °C) até ao fim da data de validade indicada na caixa do kit.

A Protease QIAGEN (QP) liofilizada pode ser armazenada à temperatura ambiente (15–25 °C) até ao fim da data de validade do kit, sem afectar o desempenho. A Protease QIAGEN reconstituída mantém-se estável até 1 ano, desde que seja armazenada entre 2 e 8 °C, mas só até ao fim da data de validade do kit.

O Tampão de Lavagem 1 (AW1) reconstituído e o Tampão de Lavagem 2 (AW2) reconstituído permanecem estáveis por 1 ano quando armazenados à temperatura ambiente (15–25 °C), mas só até ao fim da data de validade do kit.

Manuseamento e armazenamento de amostras

O crioprecipitado que se forma durante o descongelamento de amostras congeladas irá obstruir a membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini. Se o crioprecipitado for visível, evitar a sua aspiração durante a aspiração da amostra. Foram determinados os efeitos do congelamento e descongelamento das amostras de sangue sobre a purificação do ADN, quando é utilizado o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (consultar a figura 2).

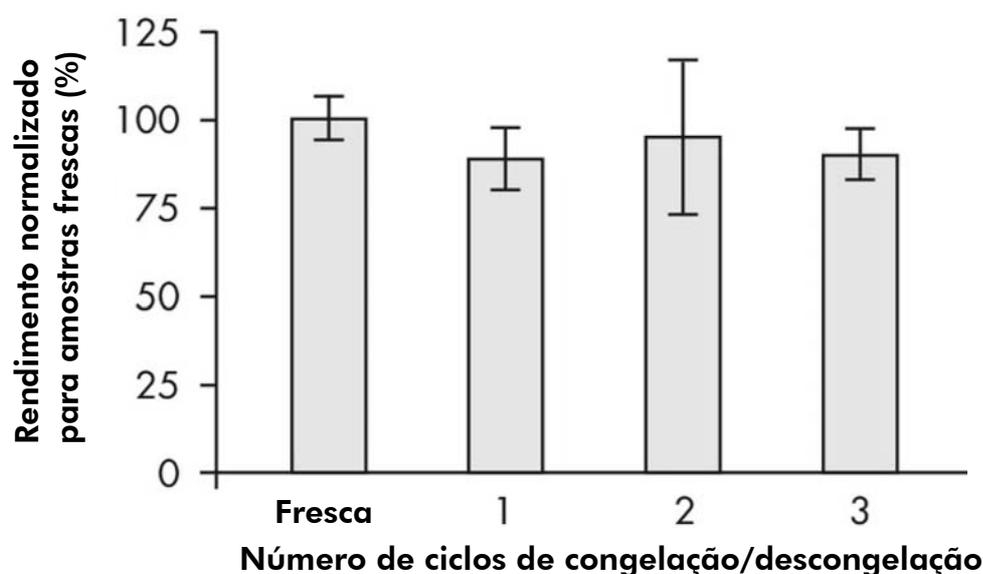


Figura 2. Efeitos do congelamento e descongelamento das amostras de sangue. O sangue tratado com EDTA foi congelado e descongelado até 3 vezes no máximo e, depois, submetido ao processo de purificação do ADN utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Os rendimentos calculados do ADN são normalizados para o rendimento de amostras frescas (100%). Cada barra do gráfico representa os resultados de 32 replicados (média \pm desvio padrão).

A quantidade de ADN purificado resultante dos procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini, depende da quantidade de glóbulos brancos contida em cada amostra de sangue. Utilizando o procedimento de centrifugação ou vácuo, o ADN genómico é purificado a partir de 200 μ l de amostras de sangue de doadores saudáveis. Podem ser utilizados vários tubos primários e vários anticoagulantes para realizar a colheita do sangue através dos procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini (tabela 1).

Tabela 1. Rendimentos médios relativos do ADN de amostras de sangue colhidas utilizando vários tubos primários e vários anticoagulantes

Tubo primário	Fabricante	N.º de cat.	Volume nominal	Rendimento médio*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 µg
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 µg
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 µg
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 µg
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 µg
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6,5 µg
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6,3 µg

O ADN genómico foi purificado a partir de 200 µl de amostras de sangue de dadores saudáveis (4,0 x 10⁶ células por ml para 9,0 x 10⁶ células por ml).

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

Remoção dos contaminantes residuais

Enquanto o ADN genómico permanece ligado à membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini, os contaminantes são arrastados por lavagem utilizando o Tampão de Lavagem 1 (AW1) e o Tampão de Lavagem 2 (AW2).

Eluição do ADN genómico purificado

O ADN genómico é eluído da membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini com a utilização de 50 a 200 µl de Tampão de Eluição (AE). O ADN eluído está pronto a ser utilizado em diferentes ensaios downstream, incluindo uma variedade de ensaios downstream de diagnóstico in vitro.

Notas Importantes

Pontos importantes antes de iniciar o protocolo

- Após a recepção do kit, confirmar se todos os respectivos componentes estão em perfeito estado. Se as embalagens de blisters ou os recipientes do tampão apresentarem danos, contactar o Serviço Técnico QIAGEN ou o distribuidor local. Em caso de derramamento de líquido, consultar “Dados de segurança” (página 10). Não utilizar os componentes do kit que estejam danificados, já que sua utilização pode ocasionar um funcionamento deficiente do mesmo.
- Trocar sempre as pontas das pipetas ao transferir líquidos diferentes. Para minimizar a contaminação cruzada, recomenda-se a utilização de pontas de pipetas com barreira para aerossóis.
- Realizar todos os passos correspondentes à centrifugação à temperatura ambiente (15–25 °C).
- Utilizar sempre luvas descartáveis e certificar-se de que não estão contaminadas com material proveniente da amostra. Descartar as luvas quando contaminadas.
- Para minimizar a contaminação cruzada, abrir só um tubo de cada vez.
- Não utilizar componentes de outros kits com o kit que está a ser utilizado em determinado momento, excepto quando tiverem números de lotes iguais.
- Evitar a contaminação microbiana dos reagentes do kit.
- Para minimizar o risco de infecção com materiais potencialmente infecciosos, recomenda-se trabalhar num ambiente de fluxo de ar laminar até as amostras serem lisadas.
- Este kit deve ser unicamente utilizado por pessoal com formação em práticas de diagnóstico in vitro.

Preparação de reagentes e tampões

■ Preparação da Protease QIAGEN

Adicionar 1,2 ml de Solvente de Protease (PS) ao recipiente de Protease QIAGEN liofilizado (QP) e misturar muito bem. Para evitar a formação de espuma, misturar, invertendo os tubos várias vezes. Verificar se a Protease QIAGEN (QP) está completamente dissolvida.

- ⓘ Não adicionar Protease QIAGEN (QP) directamente ao Tampão de Lise (AL).

■ **Preparação do Tampão de Lavagem 1**

Utilizando um cilindro graduado, adicionar 25 ml de etanol (96–100%) ao recipiente que contém 19 ml de Tampão de Lavagem 1 (AW1) concentrado. Armazenar o Tampão de Lavagem 1 (AW1) reconstituído à temperatura ambiente (15–25 °C).

- ① Misturar sempre o Tampão de Lavagem 1 (AW1) reconstituído, invertendo o recipiente várias vezes, antes de iniciar o procedimento.

■ **Preparação do Tampão de Lavagem 2**

Utilizando um cilindro graduado, adicionar 30 ml de etanol (96–100%) ao recipiente que contém 13 ml de Tampão de Lavagem 2 (AW2) concentrado. Armazenar o Tampão de Lavagem 2 (AW2) reconstituído à temperatura ambiente (15–25 °C).

- ① Misturar sempre o Tampão de Lavagem 2 (AW2) reconstituído, invertendo o recipiente várias vezes, antes de iniciar o procedimento.

■ **Preparação do tampão de eluição**

É fornecido juntamente com o kit, um recipiente de Tampão de Eluição (AE). Para evitar a contaminação do Tampão de Eluição (AE), recomenda-se a utilização de ponteiros de pipetas com barreiras para aerossóis ao pipetar o Tampão de Eluição (AE) do recipiente e a colocação imediata da tampa do recipiente após utilização do mesmo.

- ① O Tampão de Eluição (AE) que contém azida sódica como conservante, mostra uma absorvância de 260 nm. Portanto, ao quantificar o ADN no eluído através da medição da absorvância a 260 nm, ao determinar a pureza do ADN no eluído através da medição da absorvância a 260 nm e 280 nm ou ao examinar a absorvância num intervalo entre 220 e 350 nm, certificar-se de que o branco contém a mesma concentração de azida sódica que o eluído. Por exemplo, ao preparar um eluído para medir a absorvância através da diluição de 50 µl de eluído com 100 µl de água, o branco deve ser preparado diluindo 50 µl de Tampão de Eluição (AE) com 100 µl de água. Utilizar água fresca e destilada para a diluição.

Manuseamento das colunas para centrifugação do QIAamp Mini

Dada a sensibilidade das tecnologias de amplificação de ácidos nucleicos, as precauções seguidamente indicadas são necessárias quando se manusearem colunas para centrifugação do QIAamp Mini, a fim de evitar contaminação cruzada entre preparações de amostras:

- Aplicar cuidadosamente a amostra ou a solução na coluna para centrifugação do QIAamp Mini. Pipetar a amostra para dentro da coluna para centrifugação do QIAamp Mini sem molhar os bordos da coluna.
- Trocar sempre as pontas das pipetas ao transferir líquidos diferentes. Recomenda-se a utilização de pontas de pipetas com barreira para aerossóis.
- Evitar tocar na membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini com a ponta da pipeta.
- Depois de todos os passos de vórtex pulsado, centrifugar por instantes os tubos de microcentrifugação para remover as gotas do interior das tampas.
- Abrir apenas uma coluna para centrifugação do QIAamp Mini de cada vez e ter cuidado para evitar a formação de aerossóis.
- Usar luvas durante todo o procedimento. Em caso de contacto entre as luvas e a amostra, mudar de luvas imediatamente.

Eluição do ADN genómico

O volume do eluído de ADN de uma coluna para centrifugação do QIAamp Mini pode ter até 20 μ l menos que o volume de Tampão de Eluição (AE) aplicado à coluna. O volume do eluído obtido 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 eluído de ADN é colhido em tubos de eluição (ET). Para conservar o ADN até 4 semanas, recomenda-se o armazenamento entre 2 e 8 °C. Para a conservação por longos períodos de tempo, armazenar a –20 °C.

Rendimento e qualidade do ADN genómico

O rendimento e qualidade do ADN genómico isolado permite que o mesmo possa ser utilizado em muitos tipos de procedimentos de detecção downstream de diagnósticos moleculares. Os ensaios de diagnóstico devem ser realizados de acordo com as instruções do fabricante.

Montagem do sistema de vácuo QIAvac 24 Plus

Verificar se a coluna para centrifugação do QIAamp Mini, o Vácuo Conector (VC) e a Válvula de Vácuo estão correctamente montados (consultar a figura 3).

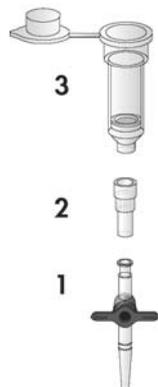


Figura 3 Montagem dos componentes do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit para o processamento de amostras com vácuo.

1. Válvula de Vácuo (fornecido com o sistema de vácuo)
2. Vácuo Conector (VC)
3. Coluna para centrifugação do QIAamp Mini

Ao utilizar o procedimento de vácuo com o sistema de vácuo QIAvac 24 Plus, recomenda-se rotular os tubos de lise (LT), os tubos de eluição (ET) e as colunas para centrifugação do QIAamp Mini conforme a figura 4 (consultar a página seguinte), para evitar confundir as amostras. Esta figura pode ser copiada e identificada com o nome das amostras. Recomenda-se a utilização de um esquema similar ao utilizar outro sistema de vácuo ou um procedimento de centrifugação.

Data: _____

Operador: _____

ID ensaio: _____

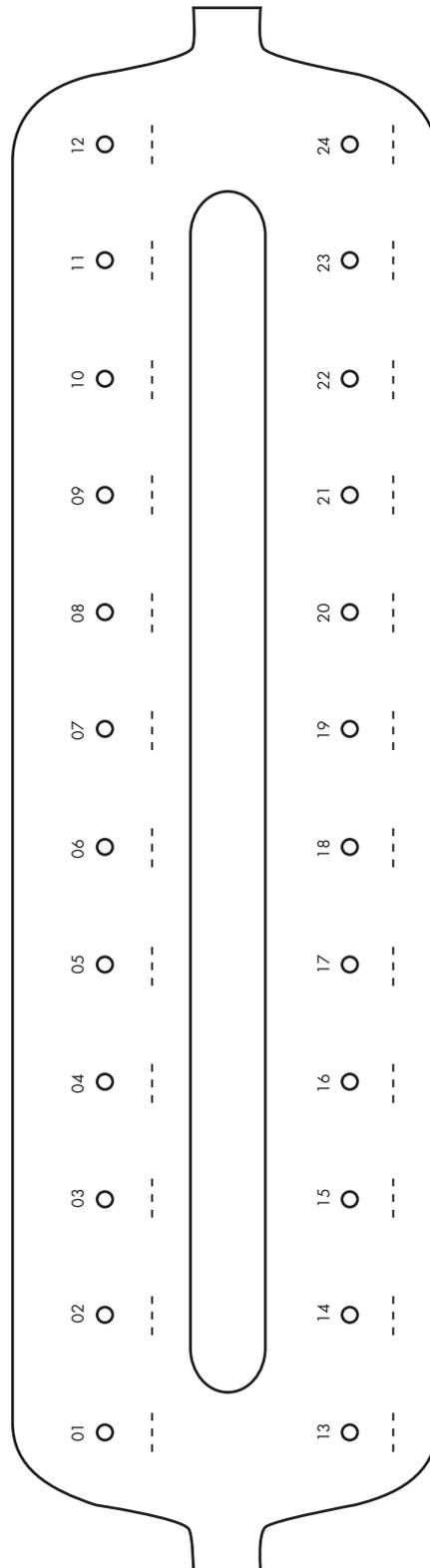


Figura 4. Esquema de rotulagem para os tubos de lise (LT), os tubos de eluição (ET) e as colunas para centrifugação do QIAamp Mini para utilização no sistema de vácuo QIAvac 24 Plus.

Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico de amostras de sangue utilizando um sistema de vácuo

Para o isolamento e a purificação de ADN genómico a partir de 200 μ l de amostras de sangue total, tratado com EDTA ou citrato, utilizando um sistema de vácuo como o QIAvac 24 Plus.

Pontos importantes antes de iniciar o procedimento

- O procedimento descrito a seguir fornece as 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.

Passos a seguir antes de começar

- Equilibrar as amostras de sangue à temperatura ambiente (15–25 °C) e verificar se as mesmas estão completamente misturadas.
- Se ocorrer formação de precipitados no Tampão de Lise (AL) dissolvê-lo mediante incubação a 56 °C.
- Certificar-se de que o Tampão de Lavagem 1 (AW1), Tampão de Lavagem 2 (AW2) e a Protease QIAGEN (QP) foram preparados de acordo com as instruções fornecidas em “Preparação de reagentes e tampões” nas páginas 15 e 16.
- Equilibrar o Tampão de Eluição (AE) à temperatura ambiente (15–25 °C) para utilizá-lo posteriormente no passo 14.
- Colocar um bloco de aquecimento a 56 °C, para utilizá-lo posteriormente no passo 4.
- Evitar a contaminação cruzada, inserindo um Vácuo Conector (VC) em cada adaptador luer do sistema de vácuo.
- Os procedimentos de controlo de qualidade na QIAGEN empregam testes de libertação de kits funcionais para cada lote individual de kits. Por consequência, não misturar reagentes de lotes de kits diferentes e não combinar reagentes individuais de lotes de reagentes diferentes.
- Verificar se o recipiente de resíduos do sistema de vácuo está limpo e se todas as ligações estão correctamente ligadas.
- Para mais detalhes a respeito do funcionamento do sistema de vácuo, especialmente no que se refere à manutenção, consultar o manual fornecido conjuntamente.

Procedimento

1. Pipetar 20 µl de Protease QIAGEN (QP) para um tubo de lise (LT).

i Verificar a data de validade da protease reconstituída antes de utilizá-la.

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

3. Adicionar 200 µl de Tampão de Lise (AL) ao Tubo de Lise (LT), fechar a tampa e agitar com um vórtex pulsado durante 15 seg.

Para assegurar um processo de lise eficaz, é fundamental que a amostra e o Tampão de Lise sejam bem misturados até obter-se uma solução homogénea.

i Como o Tampão de Lise (AL) tem uma alta viscosidade, adicionar o volume correcto de Tampão de Lise (AL), pipetando cuidadosamente ou utilizando uma pipeta apropriada.

i Não adicionar Protease QIAGEN (QP) directamente ao Tampão de Lise (AL).

4. Incubar 10 minutos (± 1 minuto) a 56 °C (± 1 °C).

5. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante ≥ 5 seg. à máxima velocidade para remover as gotas de dentro da tampa.

6. Adicionar 200 µl de etanol (96–100%) ao tubo de lise (LT), fechar a tampa e agitar com um vórtex pulsado durante ≥ 15 seg.

7. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante ≥ 5 seg. à máxima velocidade para remover as gotas de dentro da tampa.

8. Inserir a coluna para centrifugação do QIAamp Mini dentro do Vácuo Conector (VC), no sistema de vácuo. Certificar-se de que a principal válvula de vácuo (entre o sistema de vácuo e o colector de vácuo) e a válvula da tampa roscada (no colector de vácuo) estão fechadas. Ligar a bomba de vácuo.

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

O vácuo é aplicado apenas ao sistema de ligação (se utilizado) e não ao colector de vácuo.

9. Aplicar cuidadosamente todo o lisado obtido no passo 7 à coluna para centrifugação do QIAamp Mini, sem molhar as bordas. Evitar tocar na membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini com a ponta da pipeta.

i Ao processar várias amostras, abrir só um tubo de lise (LT) de cada vez.

10. Abrir a válvula de vácuo principal. Depois de o lisado passar através da coluna para centrifugação do QIAamp Mini, fechar a válvula de vácuo principal e abrir a válvula de tampa roscada no colector de vácuo para ventilar o colector. Fechar a válvula de tampa roscada depois de libertado o vácuo do colector.

Depois de fechar a válvula de vácuo principal, o vácuo é aplicado apenas ao sistema de ligação (se utilizado) e não ao colector de vácuo.

- i** Fechar a válvula de tampa roscada do colector de vácuo para uma rápida libertação do vácuo.
- i** Ao processar várias colunas para centrifugação do QIAamp Mini ao mesmo tempo, recomenda-se fechar a válvula de vácuo de cada coluna, logo que o lisado tiver passado através desta para reduzir a duração do passo de vácuo.
- i** Se o lisado não tiver passado completamente através da membrana depois de 10 min., colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini dentro de um tubo de lavagem (WT) limpo, fechar a tampa e centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) durante 3 min. ou até que o lisado tenha passado completamente através da mesma. Colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini num outro tubo de lavagem (WT) e continuar com o passo 10 do protocolo, na página 25.
- i** Se ainda assim o lisado não passar através da membrana durante a centrifugação, descartar a amostra e repetir o isolamento e purificação com novo material da amostra, começando pelo passo 1 na página 21.

11. Aplicar 750 µl de Tampão de Lavagem 1 (AW1) na coluna para centrifugação do QIAamp Mini sem molhar as bordas. Evitar tocar na membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini com a ponta da pipeta. Deixar a tampa da coluna aberta e abrir a válvula de vácuo principal. Depois de o Tampão de Lavagem 1 (AW1) ter passado através da coluna para centrifugação do QIAamp Mini, fechar a válvula de vácuo principal e abrir a válvula de tampa roscada para ventilar o colector. Fechar a válvula de tampa roscada depois de libertado o vácuo do colector.

12. Aplicar 750 µl de Tampão de Lavagem 2 (AW2) na coluna para centrifugação do QIAamp Mini sem molhar as bordas. Evitar tocar na membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini com a ponta da pipeta. Deixar a tampa da coluna aberta e abrir a válvula de vácuo principal. Depois de o Tampão de Lavagem 2 (AW2) ter passado através da coluna para centrifugação do QIAamp Mini, fechar a válvula de vácuo principal e abrir a válvula de tampa

roscada para ventilar o colector. Fechar a válvula de tampa roscada depois de libertado o vácuo do colector.

- 13. Fechar a tampa da coluna para centrifugação do QIAamp Mini, remover do sistema de vácuo e descartar o Vácuo Conector (VC). Colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini num tubo de lavagem (WT) limpo e centrifugar à máxima velocidade (aproximadamente 20 000 x g ou 14 000 rpm) durante 3 min. para secar a membrana completamente.**

i A omissão deste passo de secagem por centrifugação pode resultar em inibição do ensaio downstream.

- 14. Colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini num tubo de eluição (ET) e descartar o tubo de lavagem (WT) que contém o filtrado. Abrir cuidadosamente a tampa da coluna para centrifugação do QIAamp Mini e aplicar entre 50 a 200 µl do Tampão de Eluição (AE) no centro da membrana. Fechar a tampa e incubar à temperatura ambiente (15–25 °C) durante 1 minuto. Centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 minuto para eluir o ADN.**

i Seguir o procedimento de manutenção para o sistema de vácuo, depois de realizar este protocolo (para obter mais detalhes, consultar o manual fornecido com o sistema de vácuo).

Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico de amostras de sangue utilizando um sistema de microcentrifugação

Para isolamento e purificação do ADN genómico a partir de 200 µl de amostras de sangue total, tratado com EDTA ou citrato, utilizando uma microcentrífuga.

Pontos importantes antes de iniciar o procedimento

- O procedimento descrito a seguir fornece as 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 centrífuga.

Passos a seguir antes de começar

- Equilibrar as amostras de sangue à temperatura ambiente (15–25 °C) e verificar se as mesmas estão completamente misturadas.
- Se ocorrer formação de precipitados no Tampão de Lise (AL) dissolvê-lo mediante incubação a 56 °C.
- Certificar-se de que o Tampão de Lavagem 1 (AW1), Tampão de Lavagem 2 (AW2) e a Protease QIAGEN (QP) foram preparados de acordo com as instruções fornecidas em “Preparação de reagentes e tampões” nas páginas 15 e 16.
- Equilibrar o Tampão de Eluição (AE) à temperatura ambiente (15–25 °C) para utilizá-lo posteriormente no passo 15.
- Colocar um bloco de aquecimento a 56 °C, para utilizá-lo posteriormente no passo 4.
- Os procedimentos de controlo de qualidade na QIAGEN empregam testes de libertação de kits funcionais para cada lote individual de kits. Por consequência, não misturar reagentes de lotes de kits diferentes e não combinar reagentes individuais de lotes de reagentes diferentes.

Procedimento

1. Pipetar 20 µl de Protease QIAGEN (QP) para um tubo de lise (LT).

 Verificar a data de validade da protease reconstituída antes de utilizá-la.

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

3. Adicionar 200 µl de Tampão de Lise (AL) ao Tubo de Lise (LT), fechar a tampa e agitar com um vórtex pulsado durante 15 seg.

Para assegurar um processo de lise eficaz, é fundamental que a amostra e o Tampão de Lise (AL) sejam misturados até se obter uma solução homogénea.

ⓘ Como o Tampão de Lise (AL) tem uma alta viscosidade, adicionar o volume correcto de Tampão de Lise (AL), pipetando cuidadosamente ou utilizando uma pipeta apropriada.

ⓘ Não adicionar Protease QIAGEN (QP) directamente ao Tampão de Lise (AL).

4. Incubar 10 minutos (± 1 minuto) a $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$).

5. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante ≥ 5 seg. à máxima velocidade para remover as gotas de dentro da tampa.

6. Adicionar $200\text{ }\mu\text{l}$ de etanol (96–100%) ao tubo de lise (LT), fechar a tampa e agitar com um vórtex pulsado durante ≥ 15 seg.

7. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante ≥ 5 seg. à máxima velocidade para remover as gotas de dentro da tampa.

8. Aplicar cuidadosamente todo o lisado obtido no passo 7 à coluna para centrifugação do QIAamp Mini, sem molhar as bordas. Evitar tocar na membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini com a ponta da pipeta.

ⓘ Ao processar várias amostras, abrir só um tubo de lise (LT) de cada vez.

9. Fechar a tampa da coluna para centrifugação do QIAamp Mini e centrifugar a aproximadamente 6000 x g durante 1 minuto. Colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini num tubo de lavagem (WT) limpo e descartar o tubo que contém o filtrado.

ⓘ Se o lisado não tiver passado completamente através da membrana depois da centrifugação a aproximadamente 6000 x g (8000 rpm), centrifugar novamente à máxima velocidade (até $20\text{ }800\text{ x g}$) durante 1 minuto.

ⓘ Se ainda assim o lisado não passar através da membrana durante a centrifugação, descartar a amostra e repetir o isolamento e purificação com novo material da amostra, começando pelo passo 1 na página 24.

10. Abrir cuidadosamente a coluna para centrifugação do QIAamp Mini e adicionar $500\text{ }\mu\text{l}$ do Tampão de Lavagem 1 (AW1) sem molhar a borda. Evitar tocar na membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini com a ponta da pipeta.

11. Fechar a tampa da coluna para centrifugação do QIAamp Mini e centrifugar a aproximadamente 6000 x g durante 1 minuto. Colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini num tubo de lavagem (WT) limpo e descartar o tubo que contém o filtrado.

- 12. Abrir cuidadosamente a coluna para centrifugação do QIAamp Mini e adicionar 500 µl de Tampão de Lavagem 2 (AW2), sem molhar as bordas. Evitar tocar na membrana da coluna para centrifugação do QIAamp Mini com a ponta da pipeta.**
- 13. Fechar a tampa da coluna para centrifugação do QIAamp Mini e centrifugar à máxima velocidade (aproximadamente 20 000 x g ou 14 000 rpm) durante 1 minuto. Colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini num tubo de lavagem (WT) limpo e descartar o tubo que contém o filtrado.**
- 14. Centrifugar à máxima velocidade (aproximadamente a 20 000 x g ou 14 000 rpm) durante 3 minutos até secar a membrana completamente.**



A omissão deste passo de secagem por centrifugação pode resultar em inibição do ensaio downstream.

- 15. Colocar a coluna para centrifugação do QIAamp Mini num tubo de eluição (ET) e descartar o tubo de lavagem (WT) que contém o filtrado. Abrir cuidadosamente a tampa da coluna para centrifugação do QIAamp Mini e aplicar entre 50 a 200 µl do Tampão de Eluição (AE) no centro da membrana. Fechar a tampa e incubar à temperatura ambiente (15–25 °C) durante 1 minuto. Centrifugar a aproximadamente 6000 x g (8000 rpm) durante 1 minuto para eluir o ADN.**

Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de Gestão da Qualidade com Certificação ISO da QIAGEN, cada lote do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit é testado segundo as especificações pré-determinadas, com a finalidade de assegurar a constante qualidade do produto.

Limitações

O desempenho do sistema foi estabelecido utilizando sangue total para isolamento do ADN genómico.

É da responsabilidade do utilizador validar o desempenho do sistema para quaisquer procedimentos utilizados no seu laboratório, que não estejam abrangidos pelos estudos de desempenho da QIAGEN.

Para minimizar o risco de um impacto negativo nos resultados do diagnóstico, devem ser utilizados controlos adequados para aplicações downstream. Para uma validação mais aprofundada, são recomendadas as directrizes da International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) descritas em *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*.

Quaisquer resultados de diagnóstico gerados têm de ser interpretados juntamente com outros resultados clínicos ou laboratoriais.

Características de desempenho

Rendimento do ADN purificado

O intervalo linear do rendimento de ADN utilizando o procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini foi determinado para sangue de doadores saudáveis com uma contagem de glóbulos brancos de $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ células/ml (figura 5, página 28).

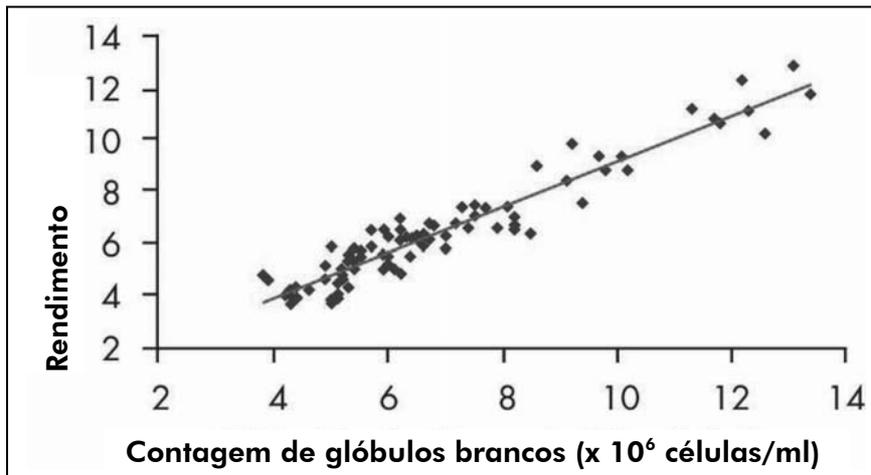


Figura 5. Intervalo linear do rendimento de ADN utilizando o procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini com um volume de eluição de 200 μ l. A contagem de glóbulos brancos dos doadores saudáveis foi determinada, encontrando-se dentro de um intervalo de $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ células/ml. O ADN foi purificado a partir de amostras de sangue utilizando o procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini com um volume de eluição de 200 μ l. Foram processados oitenta e sete triplicados de amostras.

Desempenho em ensaios downstream

O ADN genómico eluído está pronto a ser utilizado em diferentes ensaios downstream, incluindo uma variedade de ensaios downstream de diagnóstico *in vitro* (tabelas 2–6). Foram determinados os efeitos do volume de eluição e do volume do eluído utilizados no PCR no desempenho do PCR (tabela 7).

Tabela 2. Tipagem HLA utilizando ensaios Dynal® AllSet⁺™ SSP HLA-A “Low Resolution” (Baixa Resolução), HLA-B “Low Resolution”, DR “Low Resolution” e DQ “Low Resolution”

HLA locus A		HLA locus B		HLA locus DR		HLA locus DQ	
Genótipo	N.º	Genótipo	N.º	Genótipo	N.º	Genótipo	N.º
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		

O sangue total foi colhido em doadores individuais e o ADN genómico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Com os ensaios Dynal AllSet⁺ SSP (Dynal Biotech), foram identificados alelos em locus no número de indivíduos indicado. **N.º**: número de indivíduos.

Tabela 3. Genotipagem Factor V Leiden (FV) utilizando o LightCycler® Factor V Leiden Mutation Detection Kit

Genótipo	Número
Estirpe tipo	17
FV G16191 A heterozigótico	13
FV G16191 A homozigótico	0

O sangue total foi colhido em 30 doadores individuais e o ADN genómico foi purificado a partir de 200 μ l de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. O estado alélico no locus FV G1691 A foi determinado utilizando o LightCycler Factor V Leiden Mutation Detection Kit (Roche Group).

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

Genótipo	Número
Estirpe tipo	17
FV G16191 A heterozigótico	13
FV G16191 A homozigótico	0

O sangue total foi colhido em 30 doadores individuais e o ADN genómico foi purificado a partir de 200 μ l de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. O estado alélico no locus FV G1691 A foi determinado utilizando a análise de ponto final PCR e Pyrosequencing com o PSQ-96 SNP-Reagent Kit no Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

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

Genótipo	Número
Estirpe tipo	30
PT G20210A heterozigótico	0
PT G20210A homozigótico	0

O sangue total foi colhido em 30 doadores individuais e o ADN genómico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. O estado alélico no locus PT G20210A foi determinado utilizando a análise de ponto final PCR e Pyrosequencing com o PSQ-96 SNP Reagent Kit no Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabela 6. A análise de ApoE Polymorphisms T112C e C158T utilizando o PCR de ponto final, com sequência de amplicon utilizando 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

O sangue total foi colhido em 10 doadores individuais e o ADN genómico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. A análise de ApoE polimorfismos T112C e C158T foi realizada utilizando o PCR de ponto final, com sequência de amplicon utilizando o BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit e separação no ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Life Technologies Corporation).

Tabela 7. Efeitos do volume de eluição e do volume do eluído utilizado em PCR sobre o desempenho do PCR

Volume de eluição	Volume eluído por 50 μ l de PCR*		
	2 μ l	5 μ l	10 μ l
50 μ l	100%	100%	100%
100 μ l	100%	100%	97%
200 μ l	100%	100%	100%

* Os valores mostram que o PCR atinge os intervalos e representa a média de 48 amostras.

Estabilidade do eluído

Nos testes de conservação com eluídos produzidos utilizando o QIAamp DNA Blood Mini Kit, um kit de laboratório de uso geral com tecnologia idêntica, foi demonstrado que o eluído de ADN produzido nas colunas para centrifugação do QIAamp Mini com Tampão AE, permanece estável durante 8 anos quando conservado tanto a -5°C como a -20°C (figura 6). No entanto, estão a ser realizados estudos sobre a estabilidade a longo prazo dos eluídos obtidos utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

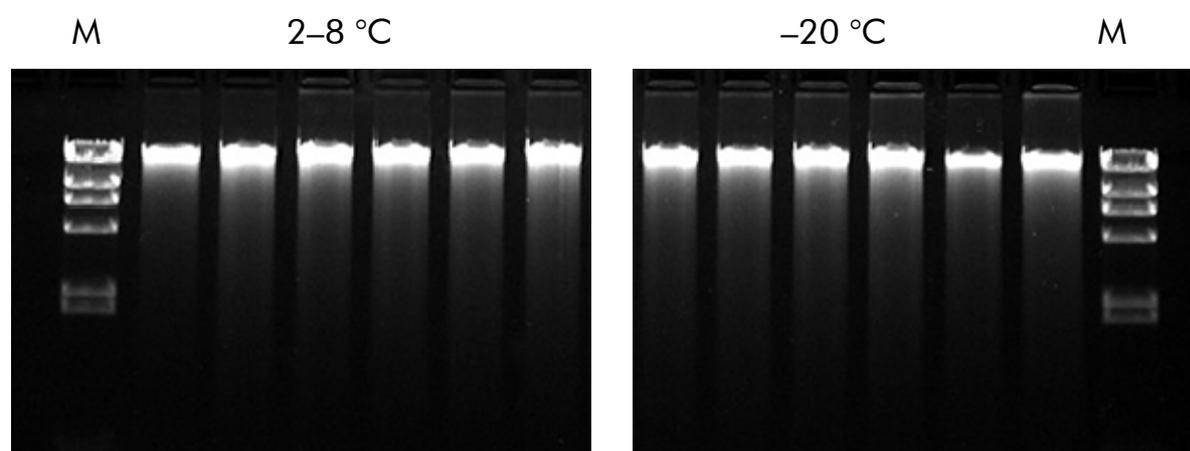


Figura 6. Estabilidade a longo prazo de ADN isolado e purificado utilizando as colunas para centrifugação do QIAamp Mini. O ADN foi purificado utilizando o QIAamp DNA Blood Mini Kit, eluído em 200 μ l de Tampão AE, e conservado entre 2 e 8 $^{\circ}\text{C}$ ou -20°C durante 8 anos. As amostras de ADN foram analisadas num gel de agarose marcado com brometo de etídio. **M:** marcador

Símbolos



Contém reagentes suficientes para <N> preparações de amostras



Prazo de validade



Dispositivo médico para diagnóstico in vitro



Na entrega



Abrir no momento da entrega; conservar as colunas para centrifugação do QIAamp Mini entre 2 e 8 °C



Número de catálogo



Número do lote



Número do material



Componentes



Contém



Número



Volume



Limites de temperatura



Fabricante



Registrar a data actual depois de adicionar etanol ao recipiente



Adicionar

LYOPH	Liofilizado
RCNS	Reconstituído em
EtOH	Etanol
GuHCl	Hidrocloreto de guanidina
SUBT	Subtilisina
➔	Resulta em
	Consultar as instruções de utilização
	Nota importante

Referências

A QIAGEN mantém uma abrangente base de dados online actualizada de publicações científicas que utilizam produtos QIAGEN. As opções de pesquisa avançada permitem localizar os artigos necessários, quer através da pesquisa por uma única palavra-chave, quer especificando a aplicação, área de investigação, título, etc.

Para obter uma lista completa de referências, visitar a base de dados de referências da QIAGEN online em www.qiagen.com/RefDB/search.asp ou contactar a Assistência Técnica ou o distribuidor local da QIAGEN.

Informações de contacto

Na QIAGEN, orgulhámo-nos da qualidade e da disponibilidade da nossa assistência técnica. Os nossos departamentos de assistência técnica são compostos por cientistas experientes com conhecimentos práticos e teóricos abrangentes em tecnologias de amostragem e ensaio e utilização dos produtos QIAGEN. Em caso de dúvidas ou dificuldades em relação ao QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ou aos produtos QIAGEN de um modo geral, não hesitar em contactar-nos.

Os clientes da QIAGEN são a principal fonte de informação no que diz respeito às utilizações avançadas ou especializadas dos nossos produtos. Estas informações são úteis a outros cientistas, bem como aos investigadores da QIAGEN. Por conseguinte, incentivamos o contacto para sugestões acerca do desempenho dos produtos ou de novas aplicações e técnicas.

Para obter assistência técnica e mais informações, consultar o nosso Centro de Suporte Técnico em www.qiagen.com/Support ou contactar um dos Departamentos da Assistência Técnica ou distribuidores locais da QIAGEN (consultar o verso do manual ou visitar www.qiagen.com).

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden, Alemanha

Informações para encomenda

Produto	Conteúdo	N.º de cat.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Para 50 preparações de ADN: Colunas para centrifugação do QIAamp Mini, Vácuo Conectores, Protease QIAGEN, Reagentes, Tampões e tubos de colheita	61104
Acessórios		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	Colector de vácuo para processamento de 1–24 colunas para centrifugação: Colector de vácuo QIAvac 24 Plus, tampões luer, acoplamentos rápidos	19413
Vacuum Pump*	Bomba de vácuo universal	84020

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

* Para uso com os protocolos de vácuo.

Marcas comerciais: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, artus®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); ABI PRISM®, BigDye™ (Life Technologies Corporation); BD™, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One); Dynal®, AllSet™ (Dynal Biotech); Eppendorf® (Eppendorf AG); LightCycler® (Roche Group); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). Nomes registados, marcas comerciais, etc. utilizados neste documento, quando não estão mencionados como tal, não são considerados como não protegidos por Lei.

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

A utilização deste produto significa o acordo por parte de qualquer comprador ou utilizador do produto segundo os seguintes termos:

1. O produto só pode ser usado em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e este manual e apenas com os componentes contidos no kit. A QIAGEN não concede qualquer licença ao abrigo de sua propriedade intelectual para usar ou incorporar os componentes englobados neste kit com qualquer componente não incluído neste kit, excepto conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, este manual e quaisquer protocolos adicionais disponíveis em www.qiagen.com. Alguns destes protocolos adicionais foram fornecidos pelos utilizadores QIAGEN para utilizadores QIAGEN. Estes protocolos não foram devidamente testados nem otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não garante nem fornece qualquer garantia de que os mesmos não infrinjam direitos de terceiros.
2. À excepção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este kit e/ou a sua utilização ou utilizações não infrinjam os direitos de terceiros.
3. Este kit e os seus componentes estão licenciados para uma única utilização e não podem ser reutilizados, renovados ou objecto de revenda.
4. A QIAGEN recusa especificamente qualquer outra licença, expressa ou implícita, à excepção das expressamente declaradas.
5. O comprador e utilizador do kit concorda em não tomar nem permitir que qualquer outro tome medidas que possam conduzir ou facilitar qualquer dos actos acima proibidos. A QIAGEN pode fazer cumprir as proibições deste Acordo de Licença Limitada em qualquer Tribunal e irá recuperar todos os seus custos legais e de investigação, incluindo honorários de advogados, em qualquer processo destinado a fazer cumprir este Acordo de licença limitada ou qualquer dos seus direitos de propriedade intelectual relativos ao kit e/ou seus componentes.

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

© 2012 QIAGEN, todos os direitos reservados.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

