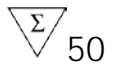


Manual do QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit



Versão 2



IVD Para uso em diagnóstico in vitro

REF 61104

HB 1071108PTBR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

Tel.: +49-2103-29-0

R2 **MAT** 1071108PTBR



Tecnologias de amostra e ensaio da QIAGEN

A QIAGEN é a principal fornecedora de tecnologias inovadoras de amostra e ensaio, permitindo o isolamento e a detecção de conteúdos de qualquer amostra biológica. Nossos serviços e produtos avançados e de alta qualidade garantem o sucesso, desde a amostra até o resultado.

A QIAGEN é uma empresa de referência em matéria de:

- Purificação de DNA, RNA e proteínas
- Ensaio de ácido nucleico e proteínas
- Pesquisa em microRNA e RNAi
- Automação de tecnologias de amostra e ensaio

A nossa missão é possibilitar que você alcance sucesso notável e progressos. Para obter mais informações, visite www.qiagen.com.

Conteúdo

Uso previsto	4
Resumo e explicação	4
Lise de células sanguíneas	5
Ligação do DNA genômico à membrana da coluna giratória do QIAamp Mini	5
Purificação automatizada	6
Materiais fornecidos	9
Conteúdo do kit	9
Materiais necessários mas não fornecidos	11
Informações de segurança	13
Armazenamento e manuseio de reagentes	15
Armazenamento e manuseio de amostras	15
Notas importantes	19
Pontos importantes antes de iniciar um protocolo	19
Preparação de reagentes e tampões	19
Manuseio das colunas giratórias do QIAamp Mini	21
Eluição de DNA genômico	21
Rendimento e qualidade do DNA genômico	21
Montagem do sistema de vácuo QIAvac 24 Plus	22
Protocolo: isolamento e purificação de DNA genômico de amostras de sangue usando um sistema de vácuo	25
Protocolo: isolamento e purificação de DNA genômico de amostras de sangue usando uma microcentrifuga	29
Controle de qualidade	32
Características de desempenho	32
Desempenho em ensaios a jusante	33
Símbolos	38
Referências	39
Informações de contato	40
Informações para pedidos	41

Uso previsto

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.

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® para uma maior padronização e facilidade de uso (consulte a página 6).

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.

Princípios do procedimento

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 giratória 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 8).

Lise de células sanguíneas

As amostras 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 DNA genômico à membrana da coluna giratória do QIAamp Mini

Para otimizar a ligação do DNA genômico à membrana da coluna giratória do QIAamp Mini, em primeiro lugar, deve ser adicionado etanol aos lisados. Em seguida, cada lisado é aplicado a uma coluna giratória 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

A purificação do DNA usando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit pode ser totalmente automatizada no QIAcube. O inovador QIAcube usa tecnologia avançada para processar as colunas giratórias QIAGEN, permitindo a integração perfeita da preparação automatizada de amostras de baixo rendimento no fluxo de trabalho do laboratório. A preparação de amostras usando o QIAcube segue as mesmas etapas do procedimento manual (isto é, lise, ligação, lavagem e eluição), permitindo continuar usando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit para a purificação de DNA de alta qualidade.

Para obter mais informações sobre o procedimento automatizado, consulte a ficha de protocolo pertinente, disponível em www.qiagen.com/MyQIAcube. As fichas de protocolo atualizadas podem ser baixadas gratuitamente ou obtidas junto ao Departamento de Assistência Técnica da QIAGEN (consulte a página 40).

Em caso de automatização do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit no instrumento QIAcube, o instrumento poderá processar menos de 50 amostras devido aos volumes mortos, à evaporação e ao consumo adicional de reagentes pela pipetagem automatizada. A QIAGEN garante apenas 50 preparações de amostras com o uso 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

Amostra



Lise



Ligação



Lavagem
(Tampão AW1)



Lavagem
(Tampão AW2)



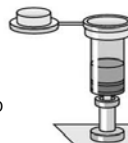
Eluição



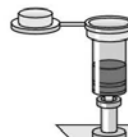
DNA viral ou genômico puro

Procedimento de vácuo do

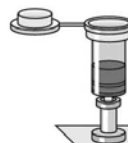
Amostra



Vácuo



Vácuo



Vácuo



Leia os protocolos (páginas 25 e 29) cuidadosamente antes de começar

No LT, adicione 20 µl de QP, 200 µl de amostra e 200 µl de AL

Agitar em vórtex durante 15 segundos

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

Adicionar 200 µl de etanol

Agitar em vórtex durante 15 segundos

Transferir o lisado para a coluna giratória do QIAamp Mini

Procedimento de centrifugação: centrifugar durante 1 minuto a 6000 x g

Procedimento de vácuo: aplicar vácuo

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

Procedimento de centrifugação: colocar a coluna giratória do QIAamp Mini em um novo WT, adicionar 500 µl de AW2 e centrifugar durante 1 minuto à velocidade máxima

(aproximadamente 20.000 x g ou 14.000 rpm)

Procedimento de vácuo: adicionar 750 µl de AW2 e

Colocar a coluna giratória do QIAamp Mini no WT

Centrifugar durante 3 minutos à velocidade máxima (aproximadamente

20.000 x g ou 14.000 rpm)

Colocar a coluna giratória do QIAamp Mini no ET




Adicionar 50 a 200 µl de AE e incubar durante 1 minuto

Centrifugar durante 1 minuto a 6000 x g

Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
Referência			61104
Número de preparações			50*
QIAamp Mini Spin	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (Colunas QIAamp Mini Spin com tubos de lavagem) (WT) (2 ml)	COL	50
ET	Elution Tubes (Tubos de eluição) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors (Conectores de vácuo)	VAC CON	50
LT	Lysis Tubes (Tubos de lise) (1,5 ml)	LYS TUBE	50
WT	Wash Tubes (Tubos de lavagem) (2 ml)	WASH TUBE	3 x 50
AL	Lysis Buffer (Tampão de lise) [†]	LYS BUF	12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Tampão de lavagem 1 [concentrado]) [†]	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Tampão de lavagem 2 [concentrado]) [†]	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AE	Elution Buffer (Tampão de eluição) [†]	ELU BUF	25 ml
PS	Protease Solvent (Solvente de protease) [‡]	QPROT SOLV	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 de 50 amostras devido aos volumes mortos, à evaporação e ao consumo adicional de reagentes pela pipetagem automatizada. A QIAGEN garante apenas 50 preparações 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 a página 14.

§ Contém azida sódica como conservante.

‡ Volume de ressuspensão de 1,2 ml. Consulte "Preparação da protease QIAGEN" 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 fichas de dados de segurança de materiais (MSDS) disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

Para os procedimentos de centrifugação e vácuo

- Etanol (96–100%)
- Pipetas* e ponteiros de pipetas (para evitar a contaminação cruzada, recomendamos fortemente a utilização de ponteiros de pipetas com barreiras contra aerossóis)
- Luvas descartáveis
- Bloco de aquecimento* para a lise das amostras a 56 °C (recomendamos o sistema termoagitador Eppendorf® Thermomixer comfort com bloco térmico para microtubos 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 (QIAvac 24 Plus, ref.^a 19413, QIAvac Connecting System, ref.^a 19419 e Vacuum Pump, ref.^a 84020) ou qualquer sistema de vácuo geral equivalente para laboratório.

* 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.

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 fichas de dados de segurança de materiais (MSDS) apropriadas. Essas fichas estão disponíveis online em formato PDF conveniente e compacto em www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx, onde você pode encontrar, visualizar e imprimir MSDS para cada kit da QIAGEN e respectivos componentes.

CUIDADO: NÃO adicione água sanitária ou soluções ácidas diretamente nos resíduos resultantes da preparação da amostra.

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

Protease QIAGEN (QP)



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

Informações de emergência disponíveis 24 horas

É possível obter informações médicas de emergência em inglês, francês e alemão durante 24 horas por dia através de:

Centro de Informações Antiveneno de Mainz, 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 pele; R41: Risco de lesões oculares graves; 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 contato com a pele; S26: Em caso de contato com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista. S36: Usar vestuário de proteção adequado; S36/37/39: Usar vestuário de proteção, luvas e equipamento protetor para os olhos/face adequados; S46: Em caso de ingestão, consultar imediatamente o médico e mostrar-lhe a embalagem ou o rótulo.

Armazenamento e manuseio de reagentes

As colunas giratórias QIAamp Mini devem ser armazenadas entre 2 e 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 a 25 °C) até o fim do prazo de validade indicado na caixa do kit.

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

Armazenamento e manuseio de amostras

Os crioprecipitados formados durante o descongelamento de amostras congeladas irão obstruir a membrana da coluna giratória 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 2).

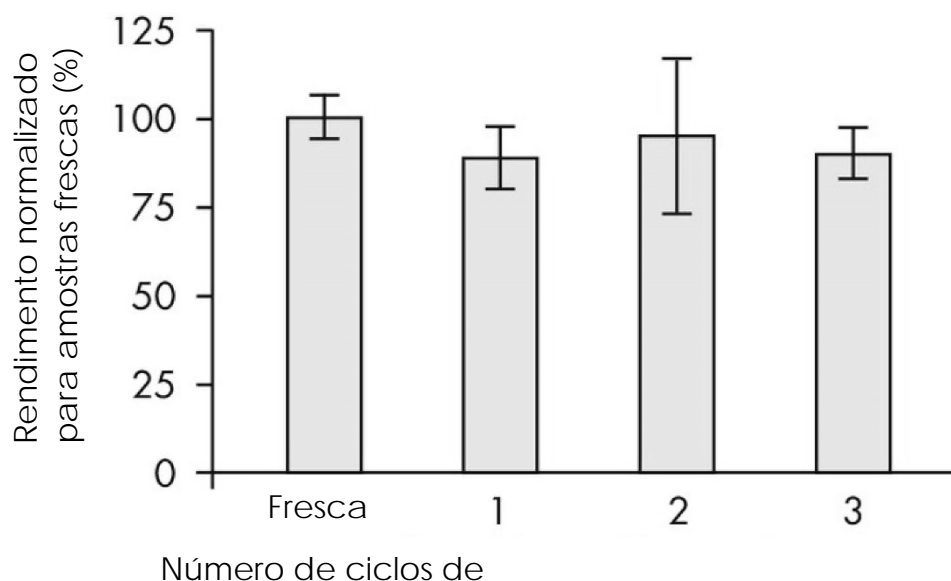


Figura 2. Efeitos do congelamento e descongelamento das amostras de sangue. O sangue tratado com EDTA foi congelado e descongelado até 3 vezes e depois submetido à purificação de DNA usando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Os

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 µl 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	Ref. ^a	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 DNA genômico foi purificado a partir de 200 µl de amostras de sangue de doadores saudáveis (4,0 x 10⁶ células por ml a 9,0 x 10⁶ 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 coluna giratória do QIAamp Mini, 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 coluna giratória do QIAamp Mini usando 50 a 200 µl de tampão de eluição (AE). O DNA eluído está pronto a ser usado em diferentes ensaios a jusante, incluindo uma variedade de ensaios a jusante 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 blisters 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 13). 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 a 25 °C).
- Sempre use luvas descartáveis e verifique regularmente se elas não estão contaminadas com o material da amostra. Descarte as luvas se elas ficarem contaminadas.
- Para minimizar a contaminação cruzada, abra apenas um tubo de cada 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.

Preparação de reagentes e tampões

■ Preparação da protease QIAGEN

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

i Não adicione protease QIAGEN (QP) diretamente ao tampão de lise (AL).

■ Preparação 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 a 25 °C).

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

■ Preparação 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 a 25 °C).

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

■ Preparação 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 ponteiros de pipetas 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.

i O tampão de eluição (AE) contém azida sódica 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 giratórias do QIAamp Mini

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

- Aplique com cuidado a amostra ou solução na coluna giratória do QIAamp Mini. Pipete a amostra na coluna giratória do QIAamp Mini sem molhar a borda da coluna.
- Troque sempre as ponteiros das pipetas entre as transferências de líquidos. Recomenda-se o uso de ponteiros de pipetas com barreiras contra aerossóis.
- Evite o contato da membrana da coluna giratória do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta.
- Após todas as etapas de agitação no vórtex por pulso, centrifugue brevemente os tubos da microcentrífuga para remover as gotas de dentro das tampas.
- Abra apenas uma coluna giratória 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 giratória 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 a 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 entre 2 e 8 °C. Para o armazenamento prolongado, recomendamos o armazenamento a –20 °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 a jusante 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 giratória do QIAamp Mini, o VacConnector (VC) e a VacValve corretamente (consulte a Figura 3).

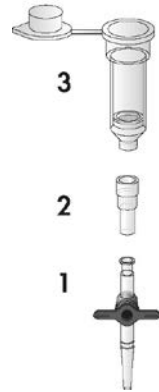


Figura 3. Montagem dos componentes do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit para o processamento de amostras com vácuo.

1. VacValve (fornecida com o sistema de vácuo)
2. VacConnector (VC)
3. Coluna giratória 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 giratórias do QIAamp Mini de acordo com o esquema da Figura 4 (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: _____

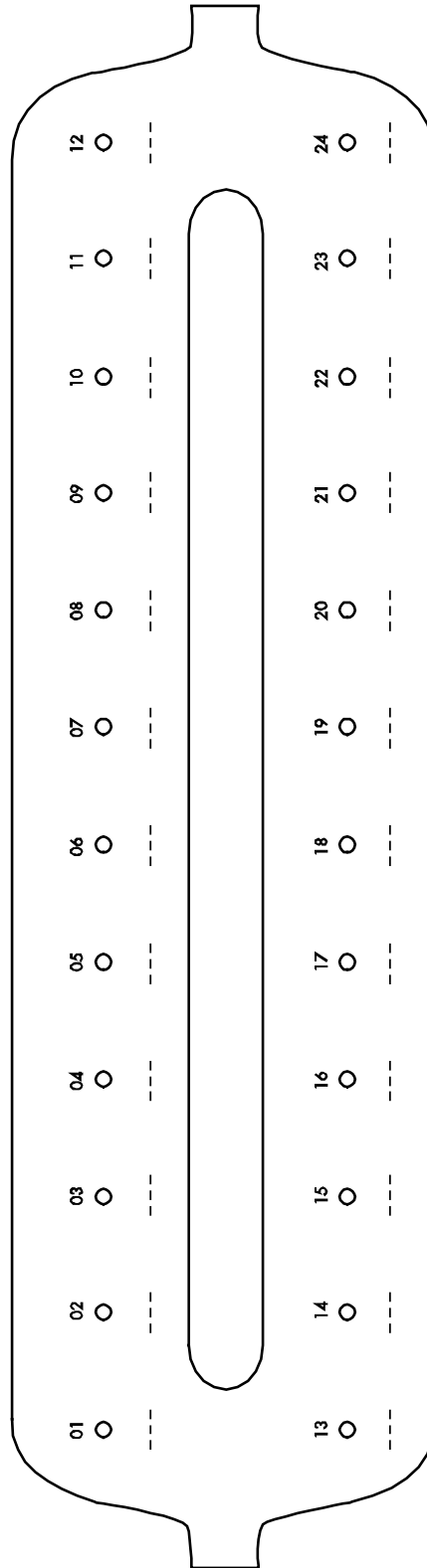


Figura 4. Esquema de rotulagem dos tubos de lise (LT), dos tubos de eluição (ET) e das colunas giratórias do QIAamp Mini para uso no sistema de vácuo QIAvac 24 Plus.

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 (15 a 25 °C) 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 protease QIAGEN (QP) tenham sido preparados de acordo com as instruções fornecidas em "Preparação de reagentes e tampões" nas páginas 19 e 20.
- Equilibre o tampão de eluição (AE) à temperatura ambiente (15 a 25 °C) 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 protease QIAGEN (QP) em um tubo de lise (LT).

 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 em um agitador de vórtex de pulso durante 15 segundos.

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

 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.


 Não adicione protease QIAGEN (QP) diretamente ao tampão de lise (AL).

4. Incube durante 10 minutos (± 1 minuto) a 56 °C (± 1 °C).
5. Centrifugue o tubo de lise (LT) durante ≥ 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 em vórtex de pulso durante ≥ 15 segundos.
7. Centrifugue o tubo de lise (LT) durante ≥ 5 segundos à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.
8. Insira a coluna giratória 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 giratória 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 giratória do QIAamp Mini sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna giratória do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta.


 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 giratória 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.

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

 Em caso de processamento de várias colunas giratórias 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.

 Se o lisado não tiver passado completamente pela membrana após 10 minutos, coloque a coluna giratória do QIAamp Mini em um tubo de lavagem (WT) limpo, feche a tampa e centrifugue a 6000 x g (8000 rpm) durante 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 31.


 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 26.

11. Aplique 750 µl de tampão de lavagem 1 (AW1) na coluna giratória do QIAamp Mini sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna giratória 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 giratória 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 giratória do QIAamp Mini sem molhar a borda. Evite o contato da

membrana da coluna giratória 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 giratória 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 giratória do QIAamp Mini, remova-a do sistema de vácuo e descarte o VacConnector (VC). Coloque a coluna giratória do QIAamp Mini em um tubo de lavagem (WT) limpo e centrifugue à velocidade máxima (aproximadamente 20.000 x g ou 14.000 rpm) durante 3 minutos para secar completamente a membrana.

 A omissão da centrifugação a seco pode resultar em inibição do ensaio a jusante.

14. Coloque a coluna giratória 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 giratória 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 (15 a 25 °C) durante 1 minuto. Centrifugue a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 minuto para eluir o DNA.

 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

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.

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 que fazer antes de começar

- Equilibre as amostras de sangue à temperatura ambiente (15 a 25 °C) 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 protease QIAGEN (QP) tenham sido preparados de acordo com as instruções fornecidas em "Preparação de reagentes e tampões" nas páginas 19 e 20.
- Equilibre o tampão de eluição (AE) à temperatura ambiente (15 a 25 °C) 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

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

 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 em um agitador de vórtex de pulso durante 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.

i 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.

i Não adicione protease QIAGEN (QP) diretamente ao tampão de lise (AL).

4. Incube durante 10 minutos (± 1 minuto) a 56 °C (± 1 °C).
5. Centrifugue o tubo de lise (LT) durante ≥ 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 em vórtex de pulso durante ≥ 15 segundos.
7. Centrifugue o tubo de lise (LT) durante ≥ 5 segundos à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.
8. Aplique cuidadosamente todo o lisado da etapa 7 na coluna giratória do QIAamp Mini sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna giratória do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta.

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

9. Feche a tampa da coluna giratória do QIAamp Mini e centrifugue a aproximadamente 6000 x g durante 1 minuto. Coloque a coluna giratória do QIAamp Mini em um tubo de lavagem (WT) limpo e descarte o tubo que contém o filtrado.

i Se o lisado não tiver passado completamente pela membrana após centrifugação a 6000 x g (8000 rpm), centrifugue novamente à velocidade máxima (até 20.800 x g) durante 1 minuto.

i 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 giratória do QIAamp Mini e adicione 500 µl de tampão de lavagem 1 (AW1) sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna giratória do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta.
11. Feche a tampa da coluna giratória do QIAamp Mini e centrifugue a aproximadamente 6000 x g durante 1 minuto. Coloque a coluna giratória do QIAamp Mini em um tubo de lavagem (WT) limpo e descarte o tubo que contém o filtrado.
12. Abra cuidadosamente a coluna giratória do QIAamp Mini e adicione 500 µl de tampão de lavagem 2 (AW2) sem molhar a borda. Evite o contato da membrana da coluna giratória do QIAamp Mini com a ponteira da pipeta.
13. Feche a tampa da coluna giratória do QIAamp Mini e centrifugue à velocidade máxima (aproximadamente 20.000 x g ou 14.000 rpm) durante 1 minuto. Coloque a coluna giratória do QIAamp Mini em um tubo de lavagem (WT) limpo e descarte o tubo que contém o filtrado.
14. Centrifugue à velocidade máxima (aproximadamente 20.000 x g ou 14.000 rpm) durante 3 minutos para secar completamente a membrana.



A omissão da centrifugação a seco pode resultar em inibição do ensaio a jusante.

15. Coloque a coluna giratória 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 giratória 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 (15 a 25 °C) durante 1 minuto. Centrifugue a aproximadamente 6000 x g (8000 rpm) durante 1 minuto para eluir o DNA.

Controle de qualidade

De acordo com o sistema de gestão de qualidade com certificado ISO da QIAGEN, cada lote de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit é testado relativamente a especificações predeterminadas 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 os controles adequados para aplicações a jusante. 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 5, página 25).

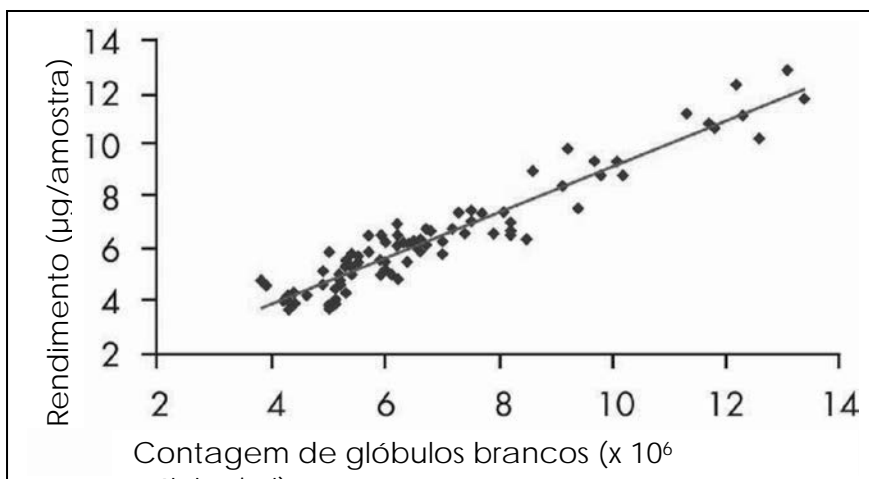


Figura 5. Intervalo linear do rendimento de DNA usando o procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini com um volume de eluição de 200 µl. As contagens de glóbulos brancos de doadores saudáveis foram determinadas e estavam dentro do intervalo de $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ células/ml. 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 a jusante

O DNA genômico eluído está pronto a ser usado em diferentes ensaios a jusante, incluindo uma variedade de ensaios a jusante de diagnóstico in vitro (Tabelas 2 a 6). Foram determinados os efeitos do volume de eluição e do volume de eluato usados em PCR no desempenho de 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 (Dynal Biotech), foram identificados alelos em locus no número de indivíduos indicado. Nº: número de indivíduos.

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

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 o LightCycler Factor V Leiden Mutation Detection Kit (Grupo Roche).

Tabela 4. Genotipagem de Fator V de 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 (Life Technologies Corporation).

Tabela 7. Efeitos do volume de eluição e do volume de eluato usados em PCR no desempenho de 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 que o PCR atinge os intervalos e representa 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 colunas giratórias do QIAamp Mini em tampão AE permaneceu estável durante 8 anos quando armazenado a 5 °C ou a -20 °C (Figura 6). No entanto, estão sendo realizados estudos de longo prazo sobre a estabilidade dos eluatos obtidos com o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

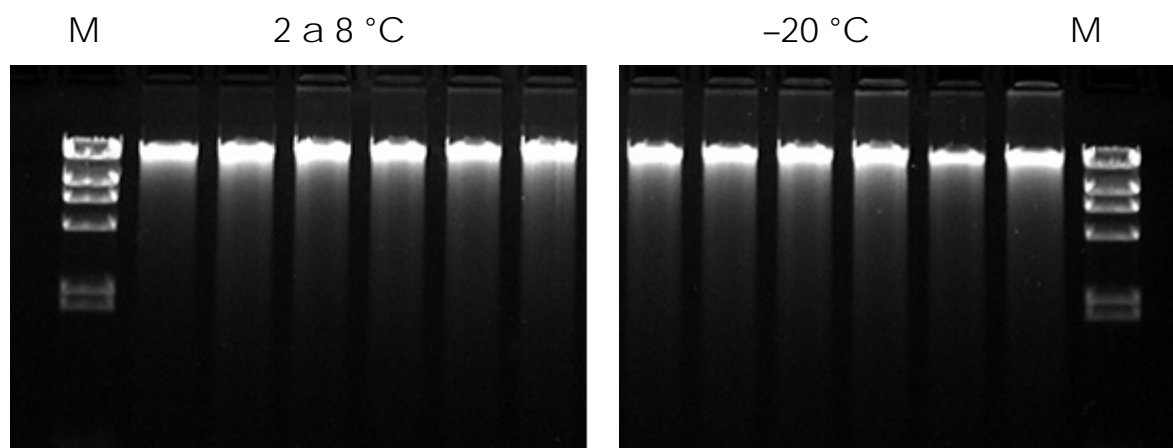
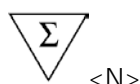


Figura 6. Estabilidade de longo prazo de DNA isolado e purificado usando colunas giratórias do QIAamp Mini. O DNA foi purificado usando o QIAamp DNA Blood Mini Kit, eluído em 200 µl de tampão AE e armazenado entre 2 e 8 °C ou a -20 °C durante 8 anos. As amostras de DNA foram analisadas em gel de agarose corado com brometo de etídio.

M: marcador.

Símbolos



Contém reagentes suficientes para <N> preparações de amostras



Prazo de validade



Dispositivo médico de diagnóstico in vitro



Na chegada



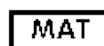
Abrir no momento da entrega; conservar as colunas giratórias do QIAamp Min entre 2 e 8 °C



Referência



Número do lote



Número do material



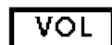
Componentes



Contém



Número



Volume



Limites de temperatura



Fabricante




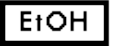





Anotar a data atual depois de adicionar etanol ao frasco



Adicionar



Liofilizado

	Reconstituir em
	Etanol
	Cloridrato de guanidina
	Subtilisina
	Resulta em
	Consultar as instruções de uso
	Nota importante

Referências

A QIAGEN mantém um vasto banco de dados online atualizado de publicações científicas que utilizam produtos QIAGEN. As opções de pesquisa avançada permitem localizar os artigos que você precisa, pesquisando por uma única palavra-chave ou especificando a aplicação, área de investigação, título, etc.

Para obter uma lista completa de referências, visite o banco de dados de referências da QIAGEN online no endereço www.qiagen.com/RefDB/search.asp ou entre em contato com a Assistência Técnica da QIAGEN ou com o distribuidor local.

Informações de contato

Na QIAGEN, temos orgulho na qualidade e na disponibilidade do nosso suporte técnico. Nossos Departamentos de Assistência Técnica são constituídos por cientistas experientes com vastos conhecimentos práticos e teóricos em tecnologias de amostragem e ensaio e no uso dos produtos da QIAGEN. Em caso de dúvidas ou dificuldades relacionadas ao QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ou aos produtos da QIAGEN de um modo geral, não hesite em entrar em contato conosco.

Os clientes da QIAGEN são uma grande fonte de informações no que respeita aos usos avançados ou especializados dos nossos produtos. Essas informações são úteis para nossos cientistas, bem como para os pesquisadores da QIAGEN. Dessa forma, incentivamos você a entrar em contato conosco em caso de sugestões sobre desempenho de produtos ou novas aplicações e técnicas.

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

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

Informações para pedidos

Produto	Conteúdo	Ref. ^a
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Para 50 preparações de DNA: colunas giratórias do QIAamp Mini, VacConnectors, protease QIAGEN, reagentes, tampões e tubos de coleta	61104
Acessórios		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	Coletor de vácuo para processamento de 1 a 24 colunas giratórias: coletor de vácuo QIAvac 24 Plus, plugues luer, acoplamentos rápidos	19413
Vacuum Pump*	Bomba de vácuo universal	84020

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

* Para uso com protocolos de vácuo.

Marcas comerciais: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (Grupo QIAGEN); 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® (Grupo Roche); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). 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.

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 pode ser usado somente de acordo com os protocolos fornecidos com o produto e esse manual e para uso com componentes contidos apenas no kit. A QIAGEN não concede qualquer licença ao abrigo da sua propriedade intelectual para usar ou incorporar os componentes incluídos neste kit com quaisquer componentes não incluídos neste kit, exceto conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, este manual e quaisquer 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 infringem os direitos de terceiros.
2. Com exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este kit e/ou a sua utilização não infrinja os direitos de terceiros.
3. Esse kit e seus componentes são 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 kit concordam em não tomar nem permitir que qualquer outra pessoa tome medidas que possam levar ou facilitar qualquer um dos atos acima proibidos. A QIAGEN pode fazer cumprir as proibições deste Acordo de licença limitada em qualquer Tribunal e irá recuperar todos seus custos de investigação e de Tribunal, incluindo honorários de advogados, em qualquer ação destinada a fazer cumprir este Acordo de licença limitada ou qualquer um de seus direitos de propriedade intelectual relativos ao kit e/ou seus componentes.

Para obter os termos de licença atualizados, consulte 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

