

Dezembro 2017

# Folha de protocolo QIASymphony<sup>®</sup> SP

## Protocolo DNA\_Buffy\_Coat\_400\_V6\_DSP

Este documento é a *Folha de protocolo do QIASymphony SP: DNA\_Buffy\_Coat\_400\_V6\_DSP* para o QIASymphony DSP DNA Mini Kit, versão 1, R3.

## Informações gerais

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

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

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (n.º cat. 937255)
<b>Material de amostra</b>	Camada leucoplaquetária (buffy coat) (anticoagulada com EDTA, citrato ou heparina)
<b>Nome do protocolo</b>	DNA_BC_400_V6_DSP
<b>Conjunto de controlo do ensaio predefinido</b>	ACS_BC_400_V6_DSP
<b>Editável</b>	Volume de eluição: 200 µl, 400 µl
<b>Versão de software necessária</b>	Versão 4.0 ou posterior

## Bandeja "Sample" (Amostra)

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

n/a = não aplicável.

## Bandeja "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

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

n/a = não aplicável.

## Bandeja "Waste" (Resíduos)

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

## Bandeja "Eluate" (Eluato)

<b>Suporte de eluição (recomendamos a utilização da ranhura 1, posição de arrefecimento)</b>	Para obter mais informações, consultar <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
--	---

## Material de plástico necessário

	<b>Um lote, 24 amostras*</b>	<b>Dois lotes, 48 amostras*</b>	<b>Três lotes, 72 amostras*</b>	<b>Quatro lotes, 96 amostras*</b>
Pontas com filtro descartáveis, 200 µl <sup>†</sup>	4	4	4	8
Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl <sup>†</sup>	110	212	314	424
Cartuchos de preparação de amostras <sup>‡</sup>	18	36	54	72
Mangas de 8 barras <sup>§</sup>	3	6	9	12

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

<sup>†</sup> Estão disponíveis 32 pontas com filtro/suporte de pontas.

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

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

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

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

## Volume de eluição

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

## Preparação do material de amostra

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

### Ponto importante antes de iniciar

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

### Camada leucoplaquetária

A camada leucoplaquetária (buffy coat) é uma fração de sangue total enriquecida com leucócitos. A eficiência do enriquecimento com leucócitos depende do procedimento utilizado para preparar a camada leucoplaquetária (buffy coat) e da exatidão com que essa camada é extraída. Preparar a camada leucoplaquetária (buffy coat) centrifugando amostras de sangue total que contenham um anticoagulante padrão (EDTA, citrato ou heparina) a 900–1100 x g, durante 10 minutos à temperatura ambiente (15–25 °C). Após a centrifugação, é possível distinguir 3 frações diferentes: a camada transparente superior é plasma, a camada intermédia é a camada leucoplaquetária (buffy coat), com leucócitos concentrados, e a camada inferior contém eritrócitos concentrados. Deverá ser colhido aproximadamente 1 ml de fração contendo leucócitos em 10 ml de sangue total centrifugado, o que, em média, produz um enriquecimento de 5–6x. Por exemplo, 10 ml de sangue total com uma contagem de glóbulos brancos de  $6 \times 10^6$  glóbulos/ml tem como resultado 1 ml de camada leucoplaquetária (buffy coat). Partindo do princípio de que os glóbulos brancos foram enriquecidos 5x, o resultado são  $3 \times 10^7$  glóbulos/ml. Por isso, num protocolo que utiliza 400 µl de camada leucoplaquetária (buffy coat), serão utilizados  $1,2 \times 10^7$  glóbulos.

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

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

---

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

## Histórico de revisões

Histórico de revisões do documento	
12-2017 R3	Atualização para a versão 5.0 do software QIAsymphony

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

Marcas comerciais: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (Grupo QIAGEN). Os nomes registados, as marcas comerciais etc. utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados como tal, não devem ser considerados como não protegidos por lei.  
12/2017 HB-0977-S06-003 © 2017 QIAGEN, todos os direitos reservados.

---

Encomendas [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistência técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)