

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

Produto	Preparações
M6399-01CEIVD	4 x 96 preparações

Data do manual: Julho de 2023
Número da revisão: v1.1



Para utilização em diagnóstico in vitro



Omega Bio-tek, Inc.
400 Pinnacle Way, Suite 450
Norcross, GA 30071, EUA



www.omegabiotek.com



+1-770-931-8400



+1-770-931-0230



info@omegabiotek.com



[omegabio-tek](https://www.linkedin.com/company/omega-bio-tek)



[omegabiotek](https://twitter.com/omegabiotek)



[omegabiotek](https://www.facebook.com/omegabiotek)

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

Índice

Utilização prevista e Utilizador previsto.....	2
Descrição do produto.....	3
Conteúdo do kit.....	4
Conservação e estabilidade.....	4
Dispositivos de separação magnética e materiais plásticos.....	4
Preparação dos reagentes.....	5
Controlo de Qualidade.....	6
Advertências/Informação de segurança.....	7
Precauções.....	8
Limitações.....	9
Protocolo para sangue.....	10
Protocolo para tecido.....	14
Protocolo para células em cultura.....	19
Protocolo para saliva.....	24
Protocolo para esfregaços orais.....	28
Informações de contacto.....	32
Símbolos.....	33
Histórico de revisões.....	35
Avisos e isenções de responsabilidade.....	36

Data do manual: Julho de 2023

Número da revisão: v1.1



Utilização prevista

Para utilização em diagnóstico in vitro.

O Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV é destinado ao isolamento e à purificação de ADN genómico a partir de células em cultura e tecidos frescos ou congelados, até 250 µL de sangue total, esfregaços orais, até 500 µL de saliva e manchas de sangue seco.

O Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV utiliza tecnologia baseada em esferas magnéticas e pode ser processado de forma manual ou automatizada na maioria das plataformas de manipulação de líquidos abertas e processadores magnéticos.

Utilizador previsto

Este kit é destinado a uma utilização profissional.

O Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV é destinado a uma utilização in vitro e por utilizadores profissionais, tais como funcionários de laboratório, técnicos, investigadores e médicos com qualificação e formação específica em técnicas de biologia molecular e familiarizados com purificação baseada em esferas magnéticas, manual ou automatizada.

Descrição do produto

O Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV proporciona um método versátil para o isolamento de ADN de alta qualidade a partir de uma ampla variedade de amostras, incluindo células em cultura e tecidos animais frescos ou congelados, até 250 µL de sangue total, esfregaços orais, até 500 µL de saliva e manchas de sangue seco. As Partículas HDQ Mag-Bind® proporcionam um tempo de resposta magnética rápido, o que reduz o tempo de processamento global. O sistema combina as propriedades de ligação reversível a ácidos nucleicos das partículas paramagnéticas Mag-Bind® com a eficiência comprovada das características químicas dos tampões da Omega Bio-tek com vista a proporcionar um método rápido e prático para isolar ADN a partir de várias amostras. O procedimento de purificação proporciona ADN de alta qualidade que é adequado para utilização direta na maioria das aplicações a jusante, tais como amplificação, sequenciação de nova geração e reações enzimáticas.

Se estiver a utilizar o Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV pela primeira vez, leia esta brochura na totalidade para se familiarizar com os procedimentos. As amostras são lisadas em sistemas de tampões que são especificamente personalizados para cada tipo de material inicial. Depois da lise, as amostras são misturadas com Tampão de ligação HDQ e Partículas HDQ Mag-Bind® para que o ADN se ligue às esferas magnéticas. As partículas paramagnéticas são separadas dos lisados através da utilização de um dispositivo de separação magnética. Depois de alguns passos de lavagem rápidos para remover vestígios de contaminantes, o ADN é eluído em Tampão de eluição.

Uma revisão dos métodos para isolamento e purificação de DNA/RNA é fornecida na seguinte literatura referenciada^{1,2}.

Importante:

1. No caso de automatização deste procedimento num manipulador de líquidos ou processador magnético, entre em contacto com o seu representante da Omega Bio-tek para obter instruções para instrumentos específicos.
2. Os kits incluem reagentes suficientes para o número de preparações especificado mais um excedente de 10% para garantir que existe volume suficiente. Tenha em conta que o número real de preparações poderá ser mais baixo devido ao pré-aliquotamento de reagentes, ao processamento de placas parciais e à plataforma de automatização utilizada, etc.

¹ Ali, N., Rampazzo, R., Costa, A., & Krieger, M. A. (2017). Current Nucleic Acid Extraction Methods and Their Implications to Point-of-Care Diagnostics. *BioMed research international*, 2017, 9306564. <https://doi.org/10.1155/2017/9306564>

² Geciova, J., Bury, D., & Jelen, P. (2002). Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry—a review. *International Dairy Journal*, 12(6), 541-553.

Conteúdo do kit

Produto	M6399-01CEIVD
Purificações	4 x 96
Tampão AL	125 mL
Tampão TL	120 mL
Tampão de ligação HDQ	40 mL
Tampão VHB	230 mL
Tampão SPM	150 mL
Tampão de eluição	250 mL
Solução de proteinase K	9 mL
Partículas HDQ Mag-Bind®	9 mL

Conservação e estabilidade

Todos os componentes do Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV têm garantia durante, pelo menos, 12 meses a partir da data de compra quando conservados da seguinte forma. A Solução de proteinase K pode ser conservada a temperatura ambiente durante até 12 meses. Para conservação a longo prazo, conserve a Solução de proteinase K a 2–8 °C. Conserve todos os outros componentes às temperaturas recomendadas mencionadas no rótulo do frasco. Assim que o produto for aberto, continue a mantê-lo de acordo com as instruções indicadas no rótulo. Certifique-se de que as tampas são bem apertadas após cada utilização. Durante o envio ou conservação em ambientes frios, poderão formar-se precipitados em alguns tampões. Dissolva esses depósitos aquecendo a solução a 37 °C e agitando delicadamente.

Dispositivos de separação magnética e materiais plásticos

Embora muitas marcas de dispositivos de separação magnética sejam compatíveis com o Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV, recomendamos a utilização da Placa de íman universal Magnum™ EX da Alpaqua (ref. n.º A000380) juntamente com as placas Nunc DeepWell™ de 2 mL (ref. n.º 278752). Esta combinação proporciona tempos de magnetização rápidos, de apenas 1 minuto para a magnetização completa durante os passos de lavagem e de 5 minutos para os passos de limpeza do lisado.

Independentemente do dispositivo de separação magnética selecionado, certifique-se de que o dispositivo é compatível com os materiais plásticos necessários para este kit.

Preparação dos reagentes

1. Dilua o Tampão SPM com 350 mL de etanol a 100% e conserve a temperatura ambiente.
2. Prepare o Tampão VHB com 290 mL de etanol a 100% e conserve a temperatura ambiente.
3. Prepare o Tampão de ligação HDQ com 160 mL de isopropanol a 100% e conserve a temperatura ambiente.
4. Agite as Partículas HDQ Mag-Bind® manualmente ou no vórtex para ressuspender totalmente as partículas antes da utilização. As partículas têm de estar totalmente em suspensão durante a utilização para assegurar uma ligação adequada.

Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de gestão da qualidade da Omega Bio-tek certificado segundo os padrões ISO, todos os reagentes do Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV são testados rotineiramente quanto a especificações predeterminadas lote a lote para assegurar a fiabilidade no desempenho e a consistência na qualidade do produto.

Advertências

Este kit é destinado a uma utilização em diagnóstico in vitro.

Leia todas as instruções atentamente antes de utilizar o kit.

Descontamine e elimine todos os materiais potencialmente infecciosos em conformidade com os regulamentos locais, estatais e europeus. Para clientes na União Europeia, tenha em conta que tem a obrigação de notificar incidentes graves que tenham ocorrido em relação ao dispositivo, ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que utilizador e/ou o doente está estabelecido. Para obter qualquer tipo de assistência, entre em contacto com a Omega Bio-tek através do email info@omegabiotek.com.

Se utilizar este kit seguindo um fluxo de trabalho de extração automatizado, a superfície da plataforma automatizada é considerada um perigo biológico. Utilize métodos apropriados de descontaminação e eliminação em conformidade com todos os regulamentos estatais/regionais locais e/ou nacionais aplicáveis.

Informação de segurança




Todos os produtos químicos e materiais biológicos são potencialmente perigosos.

As amostras biológicas tais como plasma, soro, tecidos, fluidos corporais e sangue, entre outros, são potencialmente infecciosos e têm de ser tratados como materiais que apresentam risco biológico. Desempenhe todo o trabalho em instalações devidamente equipadas seguindo precauções universais e utilizando equipamento de proteção individual apropriado tal como luvas descartáveis, batas de laboratório e óculos de proteção, entre outros, conforme exigido por políticas e procedimentos descritos pelas instalações onde trabalha.

Consulte as fichas de dados de segurança (FDS) para obter informações sobre manuseamento, transporte e eliminação de diferentes reagentes incluídos neste kit. As FDS são disponibilizadas em formato PDF na página do produto em www.omegabiotek.com. Elimine todos os resíduos em conformidade com os regulamentos de segurança locais.

Precauções

Alguns dos tampões incluídos no Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV contém agentes caotrópicos baseados em guanidina, os quais podem formar compostos altamente reativos quando combinados com lixívia. **NÃO adicione lixívia nem soluções acídicas** a resíduos de preparação de amostras que contenham guanidina. Aceda às FDS online para obter informações detalhadas sobre os reagentes.

Componente	Descrição
<p>Tampão AL</p> 	<p>Contém: Cloridrato de Guanidina. Aviso! Causa irritação ocular grave. Causa irritação na pele. Perigoso se ingerido. Não coma, beba ou fume ao usar este produto. Lave bem todas as áreas externas expostas do corpo após o manuseio. Use luvas de proteção, roupas de proteção, proteção para os olhos e proteção para o rosto. NOS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Remova as lentes de contato, se presentes e fáceis de retirar. Continue enxaguando. Obtenha aconselhamento/atenção médica se a irritação ocular persistir. Tire a roupa contaminada e lave-a antes de reutilizá-la. NA PELE: Lavar com bastante água e sabão. Obtenha aconselhamento/atenção médica se ocorrer irritação ou erupção cutânea. INGESTÃO: Enxaguar a boca. Ligue para um centro de intoxicação ou médico/médico se você se sentir mal.</p>
<p>Tampão TL</p> 	<p>Contém: detergente aniônico. Advertência! Provoca irritação ocular grave. Pode provocar uma reação alérgica cutânea. Evitar respirar névoas/vapores/aerossóis. A roupa de trabalho contaminada não deverá sair do local de trabalho. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. Caso a irritação ocular persista, consulte um médico. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. Em caso de irritação ou erupção cutânea, consulte um médico. Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar.</p>
<p>Solução de proteinase K</p> 	<p>Contém: proteinase K. Perigo! Provoca irritação cutânea ligeira. Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. Evitar respirar poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Usar proteção respiratória. Em caso de exposição ou suspeita de exposição: contacte um centro de informação antivenenos ou um médico. Retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.</p>

Precauções

Componente	Descrição
Tampão de ligação HDQ	Contém: Perclorato de sódio. Perigo! Pode causar danos aos órgãos por exposição repetida ou prolongada. Pode causar incêndio ou explosão; oxidante forte. Perigoso se ingerido. Mantenha longe do calor, superfícies quentes, faíscas, chamas abertas e outras fontes de ignição. Proibido fumar. Mantenha longe de roupas e outros materiais combustíveis. Não respire névoa/vapores/spray. Lave bem todas as áreas externas expostas do corpo após o manuseio. Não coma, beba ou fume ao usar este produto. Use luvas de proteção e roupas de proteção. INGESTÃO: Enxaguar a boca. Ligue para um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico/médico/socorrista se não se sentir bem. SOBRE A ROUPA: Lave imediatamente a roupa e a pele contaminadas com bastante água antes de retirar a roupa. Procure aconselhamento/atenção médica se não se sentir bem. Em caso de incêndio: Use ... para extinguir. Em caso de grande incêndio e grandes quantidades: Evacue a área. Combata o fogo remotamente devido ao risco de explosão.
Tampão VHB	Contém: cloridrato de guanidina. Advertência! Provoca irritação ocular grave. Provoca irritação cutânea. Pode provocar uma reação alérgica cutânea. Nocivo por ingestão. Evitar respirar névoas/vapores/aerossóis. Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto. A roupa de trabalho contaminada não deverá sair do local de trabalho. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Em caso de exposição ou suspeita de exposição: contacte um centro de informação antivenenos ou um médico. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. Caso a irritação ocular persista, consulte um médico. Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. Em caso de irritação ou erupção cutânea, consulte um médico. EM CASO DE INGESTÃO: enxaguar a boca. Em caso de indisposição, contacte um centro de informação antivenenos ou um médico.

Limitações

O desempenho do kit foi avaliado através do isolamento de ADN genómico a partir de 250 µL de sangue total, esfregaços orais, 500 µL de saliva conservada e células em cultura. O desempenho do kit foi também validado através da avaliação da adequabilidade do ADN genómico purificado para análise direta a jusante através de um método de amplificação padrão. Tenha em conta que o utilizador é responsável por verificar as características de desempenho para qualquer procedimento não abrangido pelos estudos de avaliação do desempenho da Omega Bio-tek. O utilizador é igualmente responsável por estabelecer métricas de desempenho para a respetiva aplicação de diagnóstico a jusante preferida. Têm de ser utilizados controlos apropriados e adequados em qualquer aplicação de diagnóstico a jusante que utilize ADN genómico purificado com o Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

Protocolo para sangue

O procedimento que se segue foi otimizado para utilização com amostras de 250 µL de sangue FRESCO ou CONGELADO. Também pode ser utilizada a camada leucoplaquetária.

Importante: no caso de automatização deste procedimento num manipulador de líquidos ou processador magnético, entre em contacto com o seu representante da Omega Bio-tek para obter instruções para instrumentos específicos.

Materiais e reagentes a serem fornecidos pelo utilizador:

- Dispositivo de separação magnética (recomendamos Magnum™ EX da Alpaqua, ref. n.º A000380)
- Agitador do tipo vórtex
- Bloco de aquecimento, incubador ou banho de água capaz de atingir 70 °C
- Microplaca de 96 poços (500 µL) ou placa de eluição desejada
- Placa de 96 poços profundos de 2 mL (recomendamos Nunc, ref. n.º 278752) ou placa desejada compatível com o dispositivo de separação magnética
- Pipetas multicanal e reservatórios de reagentes
- Etanol a 100%
- Isopropanol a 100%
- Água isenta de nucleases
- Opcional: RNase A (10 mg/mL)
- Opcional: PBS

Antes de começar:

- Prepare o Tampão SPM, o Tampão VHB e o Tampão de ligação HDQ de acordo com a secção “Preparação dos reagentes” na página 5.
- Defina o bloco de aquecimento, incubador ou banho de água para 70 °C.

1. Prepare uma mistura principal de Tampão AL e Solução de proteinase K apenas para as amostras a serem extraídas de acordo com a tabela abaixo:

Componente	Quantidade por preparação	Quantidade total por placa de 96 poços
Tampão AL	290 µL	30,6 mL*
Solução de proteinase K	20 µL	2,1 mL*

* Foi calculado um volume excedente de 10% para uma placa de 96 poços.

Importante: prepare apenas a quantidade de mistura principal de Tampão AL/ Solução de proteinase K que será utilizada dentro de 4 horas após a preparação.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

2. Adicione 250 µL de amostra de sangue a uma placa de 96 poços profundos de 2 mL (não fornecida). Se o volume de sangue for inferior a 250 µL, perfaça o volume de 250 µL com PBS (não fornecido) ou Tampão de eluição (fornecido com este kit).
3. Adicione 310 µL da mistura principal de Tampão AL/Solução de proteinase K a cada amostra. Agite no vórtex ou carregue e esvazie a pipeta 20 vezes para misturar. Uma mistura eficaz é crucial para um bom rendimento.

Nota: para protocolos automatizados, a mistura com as pontas origina os melhores resultados e é recomendada.

4. Incube a 70 °C durante 10 minutos.

Opcional: adicione 5 µL de RNase A a cada amostra. Agite no vórtex para misturar. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 2 minutos.

5. Adicione 400 µL de Tampão de ligação HDQ e 20 µL de Partículas HDQ Mag-Bind® a cada amostra. Agite no vórtex durante 10 minutos para misturar.

Nota:

- O Tampão de ligação HDQ tem de ser diluído com isopropanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções. O Tampão de ligação HDQ e as Partículas HDQ Mag-Bind® podem ser preparados como uma mistura principal. Prepare apenas o que for necessário para cada execução.
- Se não for possível a agitação no vórtex constante durante 10 minutos, agite no vórtex durante 30 segundos a cada 2 minutos durante 10 minutos.

6. Coloque a placa num dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
7. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
8. Retire a placa do dispositivo de separação magnética.
9. Adicione 600 µL de Tampão VHB a cada amostra.

Nota: o Tampão VHB tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

10. Agite no vórtex durante 15 segundos para misturar.

Nota: a ressuspensão completa das Partículas HDQ Mag-Bind® é crítica para obter uma boa pureza.

11. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.

12. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.

13. Retire a placa do dispositivo de separação magnética.

14. Repita os passos 9–13 para um segundo passo de Tampão VHB.

15. Adicione 600 µL de Tampão SPM a cada amostra.

Nota: o Tampão SPM tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

16. Agite no vórtex durante 15 segundos para misturar.

17. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.

18. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.

19. Selecione um dos seguintes passos de remoção do etanol:

- A. Deixe a placa no dispositivo de separação magnética. Adicione 500 µL de água isenta de nucleases (não fornecida), deixe no íman durante 20–30 segundos e depois aspire. Não deixe água isenta de nucleases nas Partículas HDQ Mag-Bind® durante mais de 60 segundos. Continue para o passo 20.

OU

- B. Deixe a placa no dispositivo de separação magnética. Aguarde 1 minuto. Retire o líquido residual com uma pipeta. Seque as Partículas HDQ Mag-Bind® durante 10 minutos adicionais. Continue para o passo 20.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

20. Retire a placa do dispositivo de separação magnética.
21. Adicione 50–200 µL de Tampão de eluição ou água isenta de nucleases para eluir o ADN das Partículas HDQ Mag-Bind®.

Nota: aqueça o Tampão de eluição ou a água isenta de nucleases a 70 °C para melhorar o rendimento.

22. Agite no vórtex durante 5 minutos para misturar.

Nota: se não for possível a agitação no vórtex constante durante 5 minutos, agite no vórtex durante 15 segundos a cada 1–2 minutos durante 5 minutos.

23. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
24. Transfira o sobrenadante limpo que contém o ADN purificado para uma microplaca de 96 poços (não fornecida). Conserve o ADN a -20 °C.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

Protocolo para tecido

Este método permite o isolamento de ADN genómico a partir de até 10 mg de tecido. Os rendimentos irão variar dependendo da fonte.

Importante: no caso de automatização deste procedimento num manipulador de líquidos ou processador magnético, entre em contacto com o seu representante da Omega Bio-tek para obter instruções para instrumentos específicos.

Materiais e equipamentos a serem fornecidos pelo utilizador:

- Dispositivo de separação magnética (recomendamos Magnum™ EX da Alpaqua, ref. n.º A000380)
- Agitador do tipo vórtex
- Centrífuga com um rotor de recipientes basculantes capaz de atingir 4000 g
- Adaptador de centrífuga para placas de 96 poços
- Banho de água com agitação capaz de atingir 55 °C
- Microplaca de 96 poços (500 µL) ou placa de eluição desejada
- Placas de 96 poços profundos de 2 mL (recomendamos Nunc, ref. n.º 278752) ou placa desejada compatível com o dispositivo de separação magnética
- Pipetas multicanal e reservatórios de reagentes
- Etanol a 100%
- Isopropanol a 100%
- Água isenta de nucleases
- Recomendado: ditioneitol (DTT) a 1 M
- Opcional: RNase A (10 mg/mL)
- Opcional: bloco de aquecimento, incubador ou banho de água capaz de atingir 70 °C
- Opcional: azoto líquido e almofariz e pilão

Antes de começar:

- Prepare o Tampão SPM, o Tampão VHB e o Tampão de ligação HDQ de acordo com a secção “Preparação dos reagentes” na página 5.
- Defina o banho de água para 55 °C.
- Opcional: defina o banho de água, incubador ou bloco de aquecimento para 70 °C.
- Recomendado: adicione 40 µL de DTT a 1 M por cada 1 mL de Tampão TL antes da utilização.

OPCIONAL: embora não seja necessária a homogeneização mecânica do tecido, a pulverização das amostras em azoto líquido irá melhorar a lise e reduzir o tempo de incubação. Assim que o azoto líquido tiver evaporado, transfira o tecido pulverizado para uma placa de 96 poços profundos (não fornecida). Adicione 250 µL de Tampão TL e proceda para o passo 3 na próxima página.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

1. Desagregue até 10 mg de tecido e transfira para uma placa de 96 poços profundos (não fornecida).

Nota: cortar o tecido em pequenas peças pode acelerar a lise.

2. Adicione 250 µL de Tampão TL a cada amostra.

Opcional: para a lise de cabelo ou outros tecidos difíceis de lisar, é recomendada uma mistura principal de Tampão TL e DTT.

- Dilua DTT para uma concentração final de 40 mM no Tampão TL.
- Adicione 40 µL de DTT a 1 M por cada 1 mL de Tampão TL antes da utilização.
- Prepare apenas a quantidade de mistura principal de Tampão TL/DTT que será utilizada de imediato.

3. Adicione 20 µL da Solução de proteinase K a cada amostra. Agite no vórtex para misturar.

4. Incube a 55 °C num banho de água com agitação.

Nota: se não estiver disponível um banho de água com agitação, agite a amostra no vórtex a cada 20–30 minutos. O tempo de lise depende da quantidade e do tipo de tecido, mas habitualmente é inferior a 3 horas. A lise pode ser deixada a ocorrer de um dia para o outro.

Opcional: adicione 5 µL de RNase A a cada amostra. Agite no vórtex para misturar. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 2 minutos.

5. Centrifugue à velocidade máxima ($\geq 4000\text{ g}$) durante 5 minutos para precipitar os resíduos de tecido não digerido.
6. Transfira cuidadosamente 200 µL do sobrenadante para uma nova placa de 96 poços profundos sem destabilizar o precipitado não digerido.
7. Adicione 230 µL de Tampão AL a cada amostra. Agite no vórtex durante 10 minutos para misturar. Uma mistura eficaz é crucial para um bom rendimento.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

Nota:

- Para protocolos automatizados, a mistura com as pontas origina os melhores resultados e é recomendada.
- Se não for possível a agitação no vórtex constante durante 10 minutos, agite no vórtex durante 30 segundos a cada 2 minutos durante 10 minutos.

8. Adicione 320 µL de Tampão de ligação HDQ e 20 µL de Partículas HDQ Mag-Bind® a cada amostra. Agite no vórtex durante 10 minutos para misturar.

Nota:

- O Tampão de ligação HDQ tem de ser diluído com isopropanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções. O Tampão de ligação HDQ e as Partículas HDQ Mag-Bind® podem ser preparados como uma mistura principal. Prepare apenas o que for necessário para cada execução.
- Se não for possível a agitação no vórtex constante durante 10 minutos, agite no vórtex durante 30 segundos a cada 2 minutos durante 10 minutos.

9. Coloque a placa num dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
10. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
11. Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
12. Adicione 600 µL de Tampão VHB a cada amostra.

Nota: o Tampão VHB tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

13. Agite no vórtex durante 15 segundos para misturar.

Nota: a ressuspensão completa das Partículas HDQ Mag-Bind® é crítica para obter uma boa pureza.

14. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

15. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
16. Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
17. Repita os passos 12–16 para um segundo passo de Tampão VHB.
18. Adicione 600 µL de Tampão SPM a cada amostra.

Nota: o Tampão SPM tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.
19. Agite no vórtex durante 15 segundos para misturar.
20. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
21. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
22. Selecione um dos seguintes passos de remoção do etanol:
 - A. Deixe a placa no dispositivo de separação magnética. Adicione 500 µL de água isenta de nucleases (não fornecida), deixe no ímã durante 20–30 segundos e depois aspire. Não deixe água isenta de nucleases nas Partículas HDQ Mag-Bind® durante mais de 60 segundos. Continue para o passo 23.
- OU**
- B. Deixe a placa no dispositivo de separação magnética. Aguarde 1 minuto. Retire o líquido residual com uma pipeta. Seque as Partículas HDQ Mag-Bind® durante 10 minutos adicionais. Continue para o passo 23.
23. Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

24. Adicione 100–200 µL de Tampão de eluição ou água isenta de nucleases para eluir o ADN das Partículas HDQ Mag-Bind®.

Nota: aqueça o Tampão de eluição ou a água isenta de nucleases a 70 °C para melhorar o rendimento.

25. Agite no vórtex durante 5 minutos para misturar.

Nota: se não for possível a agitação no vórtex constante durante 5 minutos, agite no vórtex durante 15 segundos a cada 1–2 minutos durante 5 minutos.

26. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.

27. Transfira o sobrenadante limpo que contém o ADN purificado para uma microplaca de 96 poços (não fornecida). Conserve o ADN a -20 °C.

Protocolo para células em cultura

Este protocolo foi concebido para o rápido isolamento de até 25 µg de ADN genómico a partir de até 5×10^6 células em cultura.

Importante: no caso de automatização deste procedimento num manipulador de líquidos ou processador magnético, entre em contacto com o seu representante da Omega Bio-tek para obter instruções para instrumentos específicos.

Materiais e equipamentos a serem fornecidos pelo utilizador:

- Dispositivo de separação magnética (recomendamos Magnum™ EX da Alpaqua, ref. n.º A000380)
- Agitador do tipo vórtex
- Centrífuga com um rotor de recipientes basculantes capaz de atingir 4000 g
- Banho de água com agitação capaz de atingir 55 °C
- Microplaca de 96 poços (500 µL) ou placa de eluição desejada
- Placas de 96 poços profundos de 2 mL (recomendamos Nunc, ref. n.º 278752) ou placa desejada compatível com o dispositivo de separação magnética
- Pipetas multicanal e reservatórios de reagentes
- PBS frio (4 °C)
- Etanol a 100%
- Isopropanol a 100%
- Água isenta de nucleases
- Opcional: RNase A (10 mg/mL)
- Opcional: bloco de aquecimento, incubador ou banho de água capaz de atingir 70 °C
- Opcional: tripsina e raspador de células

Antes de começar:

- Prepare o Tampão SPM, o Tampão VHB e o Tampão de ligação HDQ de acordo com a secção “Preparação dos reagentes” na página 5.
- Defina o banho de água com agitação para 55 °C.
- Opcional: defina o banho de água, incubador ou bloco de aquecimento para 70 °C.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

1. Prepare a suspensão de células.
 - 1a. As amostras de células congeladas devem ser descongeladas antes de iniciar este protocolo. Precipite as células mediante centrifugação. Lave as células com PBS frio (4 °C) e ressuspensa as células em 180 µL de PBS frio. Proceda para o passo 2 deste protocolo.
 - 1b. Para células cultivadas em suspensão, precipite 5 x 10⁶ células a 1200 g num tubo de centrifuga. Elimine o sobrenadante, lave as células uma vez com PBS frio (4 °C) e ressuspensa as células em 180 µL de PBS frio. Proceda para o passo 2 deste protocolo.
 - 1c. Para células cultivadas em monocamada, recolha as células utilizando tratamento com tripsina ou um raspador de células. Lave as células duas vezes em PBS frio (4 °C) e ressuspensa as células com 180 µL de PBS frio. Proceda para o passo 2 deste protocolo.
2. Prepare uma mistura principal de Tampão AL e Solução de proteinase K apenas para as amostras a serem extraídas de acordo com a tabela abaixo:

Componente	Quantidade por preparação	Quantidade total por placa de 96 poços
Tampão AL	230 µL	24,3 mL*
Solução de proteinase K	20 µL	2,1 mL*

* Foi calculado um volume excedente de 10% para uma placa de 96 poços.

Importante: prepare apenas a quantidade de mistura principal de Tampão AL/ Solução de proteinase K que será utilizada dentro de 4 horas após a preparação.

3. Adicione 250 µL da mistura principal de Tampão AL/Solução de proteinase K a cada amostra. Agite no vórtex durante 10 minutos para misturar. Uma mistura eficaz é crucial para um bom rendimento.
- Nota:**
- Para protocolos automatizados, a mistura com as pontas origina os melhores resultados e é recomendada.
 - Se não for possível a agitação no vórtex constante durante 10 minutos, agite no vórtex durante 30 segundos a cada 2 minutos durante 10 minutos.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

4. Incube a 55 °C num banho de água com agitação durante 10 minutos.

Nota: se não estiver disponível um banho de água com agitação, agite as amostras no vórtex a cada 2–3 minutos.

5. Transfira as amostras para uma placa de 96 poços profundos (não fornecida).

Opcional: adicione 5 µL de RNase A a cada amostra. Agite no vórtex para misturar. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 2 minutos.

6. Adicione 320 µL de Tampão de ligação HDQ e 20 µL de Partículas HDQ Mag-Bind® a cada amostra. Agite no vórtex durante 10 minutos para misturar.

Nota:

- O Tampão de ligação HDQ tem de ser diluído com isopropanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções. O Tampão de ligação HDQ e as Partículas HDQ Mag-Bind® podem ser preparados como uma mistura principal. Prepare apenas o que for necessário para cada execução.
- Se não for possível a agitação no vórtex constante durante 10 minutos, agite no vórtex durante 30 segundos a cada 2 minutos durante 10 minutos.

7. Coloque a placa num dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
8. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
9. Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
10. Adicione 600 µL de Tampão VHB a cada amostra.

Nota: o Tampão VHB tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

11. Agite no vórtex durante 15 segundos para misturar.

Nota: a ressuspensão completa das Partículas HDQ Mag-Bind® é crítica para obter uma boa pureza.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

12. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
13. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
14. Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
15. Repita os passos 10–14 para um segundo passo de Tampão VHB.
16. Adicione 600 µL de Tampão SPM a cada amostra.

Nota: o Tampão SPM tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

17. Agite no vórtex durante 15 segundos para misturar.
18. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
19. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
20. Selecione um dos seguintes passos de remoção do etanol:
 - A. Deixe a placa no dispositivo de separação magnética. Adicione 500 µL de água isenta de nucleases (não fornecida), deixe no íman durante 20–30 segundos e depois aspire. Não deixe água isenta de nucleases nas Partículas HDQ Mag-Bind® durante mais de 60 segundos. Continue para o passo 21.

OU

- B. Deixe a placa no dispositivo de separação magnética. Aguarde 1 minuto. Retire o líquido residual com uma pipeta. Seque as Partículas HDQ Mag-Bind® durante 10 minutos adicionais. Continue para o passo 21.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

21. Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
22. Adicione 50–200 µL de Tampão de eluição ou água isenta de nucleases para eluir o ADN das Partículas HDQ Mag-Bind®.

Nota: aqueça o Tampão de eluição ou a água isenta de nucleases a 70 °C para melhorar o rendimento.

23. Agite no vórtex durante 5 minutos para misturar.

Nota: se não for possível a agitação no vórtex constante durante 5 minutos, agite no vórtex durante 15 segundos a cada 1–2 minutos durante 5 minutos.

24. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
25. Transfira o sobrenadante limpo que contém o ADN purificado para uma microplaca de 96 poços (não fornecida). Conserve o ADN a -20 °C.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

Protocolo para saliva

Importante: no caso de automatização deste procedimento num manipulador de líquidos ou processador magnético, entre em contacto com o seu representante da Omega Bio-tek para obter instruções para instrumentos específicos.

Materiais e equipamentos a serem fornecidos pelo utilizador:

- Dispositivo de separação magnética (recomendamos Magnum™ EX da Alpaqua, ref. n.º A000380)
- Agitador do tipo vórtex
- Banho de água com agitação capaz de atingir 55 °C
- Microplaca de 96 poços (500 µL) ou placa de eluição desejada
- Placas de 96 poços profundos de 2 mL (recomendamos Nunc, ref. n.º 278752) ou placa desejada compatível com o dispositivo de separação magnética
- Pipetas multicanal e reservatórios de reagentes
- Etanol a 100%
- Isopropanol a 100%
- Água isenta de nucleases
- Opcional: RNase A (10 mg/mL)
- Opcional: bloco de aquecimento, incubador ou banho de água capaz de atingir 70 °C

Antes de começar:

- Prepare o Tampão SPM, o Tampão VHB e o Tampão de ligação HDQ de acordo com a secção “Preparação dos reagentes” na página 5.
- Defina o banho de água com agitação para 55 °C.
- Opcional: defina o banho de água, incubador ou bloco de aquecimento para 70 °C.

1. Centrifugue o tubo de saliva a 2000 g durante 5 minutos.
2. Transfira amostras de 500 µL de saliva estabilizada (p. ex. Oragene® da DNA Genotek, iSWAB™ da Mawi, DNAgard® Saliva da Biomatrix®) para uma placa de 96 poços profundos (não fornecida).
3. Prepare uma mistura principal de Tampão AL e Solução de proteinase K apenas para as amostras a serem extraídas de acordo com a tabela abaixo:

Componente	Quantidade por preparação	Quantidade total por placa de 96 poços
Tampão AL	200 µL	21,12 mL*
Solução de proteinase K	20 µL	2,1 mL*

* Foi calculado um volume excedente de 10% para uma placa de 96 poços.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

Importante: prepare apenas a quantidade de mistura principal de Tampão AL/Solução de proteinase K que será utilizada dentro de 4 horas após a preparação.

- Adicione 220 µL de Tampão AL/Solução de proteinase K a cada amostra. Agite no vórtex durante 10 minutos para misturar. Uma mistura eficaz é crucial para um bom rendimento.

Nota:

- Para protocolos automatizados, a mistura com as pontas origina os melhores resultados e é recomendada.
- Se não for possível a agitação no vórtex constante durante 10 minutos, agite no vórtex durante 30 segundos a cada 2 minutos durante 10 minutos.

- Incube a 55 °C num banho de água com agitação durante 10 minutos.

Nota: se não estiver disponível um banho de água com agitação, agite a placa no vórtex a cada 2–3 minutos. Se tiver sido utilizado o tubo Oragene® da DNA Genotek e o passo de incubação já tiver sido realizado, salte para o passo 6.

Opcional: adicione 5 µL de RNase A a cada amostra. Agite no vórtex para misturar. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 2 minutos.

- Adicione 400 µL de Tampão de ligação HDQ e 20 µL de Partículas HDQ Mag-Bind® a cada amostra. Agite no vórtex durante 10 minutos para misturar.

Nota:

- O Tampão de ligação HDQ tem de ser diluído com isopropanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções. O Tampão de ligação HDQ e as Partículas HDQ Mag-Bind® podem ser preparados como uma mistura principal. Prepare apenas o que for necessário para cada execução.
- Se não for possível a agitação no vórtex constante durante 10 minutos, agite no vórtex durante 30 segundos a cada 2 minutos durante 10 minutos.

- Coloque a placa num dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
- Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
- Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

10. Adicione 600 µL de Tampão VHB a cada amostra.

Nota: o Tampão VHB tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

11. Agite no vórtex durante 15 segundos para misturar.

Nota: a ressuspensão completa das Partículas HDQ Mag-Bind® é crítica para obter uma boa pureza.

12. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.

13. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.

14. Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.

15. Repita os passos 10–14 para um segundo passo de Tampão VHB.

16. Adicione 600 µL de Tampão SPM a cada amostra.

Nota: o Tampão SPM tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

17. Agite no vórtex durante 15 segundos para misturar.

18. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.

19. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

20. Selecione um dos seguintes passos de remoção do etanol:

- A. Deixe a placa no dispositivo de separação magnética. Adicione 500 µL de água isenta de nucleases (não fornecida), deixe no ímã durante 20–30 segundos e depois aspire. Não deixe água isenta de nucleases nas Partículas HDQ Mag-Bind® durante mais de 60 segundos. Continue para o passo 21.

OU

- B. Deixe a placa no dispositivo de separação magnética. Aguarde 1 minuto. Retire o líquido residual com uma pipeta. Seque as Partículas HDQ Mag-Bind® durante 10 minutos adicionais. Continue para o passo 21.

21. Adicione 100–200 µL de Tampão de eluição ou água isenta de nucleases para eluir o ADN das Partículas HDQ Mag-Bind®.

Nota: aqueça o Tampão de eluição ou a água isenta de nucleases a 70 °C para melhorar o rendimento.

22. Agite no vórtex durante 5 minutos para misturar.

Nota: se não for possível a agitação no vórtex constante durante 5 minutos, agite no vórtex durante 15 segundos a cada 1–2 minutos durante 5 minutos.

23. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.

24. Transfira o sobrenadante limpo que contém o ADN purificado para uma microplaca de 96 poços (não fornecida). Conserve o ADN a -20 °C.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

Protocolo para esfregaços orais

Importante: no caso de automatização deste procedimento num manipulador de líquidos ou processador magnético, entre em contacto com o seu representante da Omega Bio-tek para obter instruções para instrumentos específicos.

Materiais e equipamentos a serem fornecidos pelo utilizador:

- Dispositivo de separação magnética (recomendamos Magnum™ EX da Alpaqua, ref. n.º A000380)
- Agitador do tipo vórtex
- Centrífuga com um rotor de recipientes basculantes capaz de atingir 4000 g
- Adaptador de centrífuga para placas de 96 poços
- Banho de água com agitação capaz de atingir 55 °C
- Microplaca de 96 poços (500 µL) ou placa de eluição desejada
- Placas de 96 poços profundos de 2 mL (recomendamos Nunc, ref. n.º 278752) ou placa desejada compatível com o dispositivo de separação magnética
- Pipetas multicanal e reservatórios de reagentes
- Etanol a 100%
- Isopropanol a 100%
- Opcional: RNase A (10 mg/mL)
- Opcional: água isenta de nucleases
- Opcional: bloco de aquecimento, incubador ou banho de água capaz de atingir 70 °C.

Antes de começar:

- Prepare o Tampão SPM, o Tampão VHB e o Tampão de ligação HDQ de acordo com a secção “Preparação dos reagentes” na página 5.
- Defina o banho de água com agitação para 55 °C.
- Opcional: defina o banho de água, incubador ou bloco de aquecimento para 70 °C.

1. Corte a cabeça da zaragatoa ou escova oral e coloque cada esfregaço num poço de uma placa de 96 poços profundos (não fornecida).

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

2. Prepare uma mistura principal de Tampão AL, Solução de proteinase K e Tampão de eluição apenas para as amostras a serem extraídas de acordo com a tabela abaixo:

Componente	Quantidade por preparação	Quantidade total por placa de 96 poços
Tampão AL	290 µL	30,6 mL*
Solução de proteinase K	20 µL	2,1 mL*
Tampão de eluição	250 µL	26,4 mL

* Foi calculado um volume excedente de 10% para uma placa de 96 poços.

Importante: prepare apenas a quantidade de mistura principal de Tampão AL/ Solução de proteinase K/Tampão de eluição que será utilizada dentro de 4 horas após a preparação.

3. Adicione 560 µL da mistura principal de Tampão AL/Solução de proteinase K/Tampão de eluição a cada amostra. Agite no vórtex ou carregue e esvazie a pipeta 20 vezes para misturar.

Nota: para protocolos automatizados, a mistura com as pontas origina os melhores resultados e é recomendada.

4. Incube a 55 °C num banho de água com agitação durante 10 minutos.

Nota: se não estiver disponível um banho de água com agitação, agite a placa no vórtex a cada 2–3 minutos.

5. Centrifugue a 3000 g durante 2 minutos.

6. Transfira 500 µL de lisado para uma nova placa de 96 poços profundos. Não transfira os esfregaços para a nova placa.

Opcional: adicione 5 µL de RNase A a cada amostra. Agite no vórtex para misturar. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 2 minutos.

7. Adicione 350 µL de Tampão de ligação HDQ e 20 µL de Partículas HDQ Mag-Bind® a cada amostra. Agite no vórtex durante 10 minutos para misturar.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

Nota:

- O Tampão de ligação HDQ tem de ser diluído com isopropanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções. O Tampão de ligação HDQ e as Partículas HDQ Mag-Bind® podem ser preparados como uma mistura principal. Prepare apenas o que for necessário para cada execução.
- Se não for possível a agitação no vórtex constante durante 10 minutos, agite no vórtex durante 30 segundos a cada 2 minutos durante 10 minutos.

8. Coloque a placa num dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
9. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
10. Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
11. Adicione 600 µL de Tampão VHB a cada amostra.

Nota: o Tampão VHB tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

12. Agite no vórtex durante 15 segundos para misturar.

Nota: a ressuspensão completa das Partículas HDQ Mag-Bind® é crítica para obter uma boa pureza.

13. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
14. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
15. Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
16. Repita os passos 11–15 para um segundo passo de Tampão VHB.
17. Adicione 600 µL de Tampão SPM a cada amostra.

Nota: o Tampão SPM tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

Kit para ADN de sangue e tecido Mag-Bind® CE DIV

18. Agite no vórtex durante 15 segundos para misturar.
19. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
20. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas HDQ Mag-Bind®.
21. Deixe a placa no dispositivo de separação magnética durante 10 minutos para secar ao ar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Retire qualquer líquido residual dos poços.


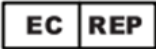

Nota: tem de ser aspirado todo o líquido neste passo. É conveniente retirar todo o líquido do poço, depois aguardar um minuto e retirar qualquer líquido residual do poço.
22. Retire a placa que contém as Partículas HDQ Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
23. Adicione 100–200 µL de Tampão de eluição ou água isenta de nucleases (não fornecida) para eluir o ADN das Partículas HDQ Mag-Bind®.

Nota: aqueça o Tampão de eluição ou a água isenta de nucleases a 70 °C para melhorar o rendimento.
24. Agite no vórtex durante 5 minutos para misturar.

Nota: se não for possível a agitação no vórtex constante durante 5 minutos, agite no vórtex durante 15 segundos a cada 1–2 minutos durante 5 minutos.
25. Coloque a placa no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas HDQ Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas HDQ Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
26. Transfira o sobrenadante limpo que contém o ADN purificado para uma microplaca de 96 poços (não fornecida). Conserve o ADN a -20 °C.

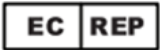









Informações de contacto

Para reencomendar produtos, notificar uma falha no dispositivo ou apresentar uma reclamação, queira por favor contactar:

	Fabricante Omega Bio-tek, Inc. 400 Pinnacle Way Suite #450 Norcross, GA 30071, USA Website: www.omegabiotek.com Email: info@omegabiotek.com SRN: US-MF-000024148
	Representante autorizado na Europa Qarad EC-REP BV Pas 257 2440 Geel Belgium SRN: BE-AR-000000040
	Suíça Representante Autorizado Qarad Suisse S.A. World Trade Center Avenue Gratta-Paille 2 1018 Lausanne Switzerland CHRN: CHRN-AR-20002058

Símbolos

Os símbolos que se seguem poderão aparecer nas instruções de utilização ou na embalagem e rótulo:

Imagem	Descrição
	Embalagem danificada (Não utilize se a embalagem estiver danificada)
	Representante autorizado na UE
	Suíça Representante Autorizado
 YYYY-MM	Data de validade
	Intervalo de temperatura de conservação a longo prazo
	Verifique os componentes relativamente às condições de conservação
	Número de lote
	Referência, número de catálogo ou peça
	Número de série
	Quantidade
	Cuidado
	Instruções de utilização
	Marcação regulamentar
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro

Símbolos



Identificador único do dispositivo



Fabricante



Nenhum perigo adicional ou não classificado como perigoso de acordo com GHS



Website



Telefone



Fax



Email



LinkedIn



Twitter



Facebook

Histórico de revisões

Revisão	Descrição
v1.1, Julho de 2023	Adicionadas informações sobre o Representante Autorizado Suíça
v1.0, dezembro de 2022	Publicação inicial

Avisos e isenções de responsabilidade

REACH Divulgação

Para utilização na União Europeia.

O Tampão AL contém Triton X-100, 2-[4-(2,4,4-trimetilpentano-2-il)fenoxi]etanol (CAS 9002-93-1), uma substância incluída na lista de substâncias sujeitas a autorização europeia (Anexo XIV) do Regulamento (CE) n.º 1907/2006 (REACH). As substâncias e misturas utilizadas para efeitos de investigação científica e desenvolvimento estão isentas dos requisitos de autorização se forem utilizadas abaixo de um volume de 1 tonelada por ano.

Investigação científica e desenvolvimento inclui investigação experimental ou atividades analíticas a uma escala laboratorial tais como síntese e testagem de aplicações de produtos químicos e testes de libertação, entre outros, bem como a utilização da substância na monitorização e controlo de qualidade de rotina ou diagnósticos in vitro.

Marcas e Licenças

Mag-Bind®, HiBind®, E.Z.N.A.® e MicroElute® são marcas comerciais registadas da Omega Bio-tek, Inc.

DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrica® DNAgard® Saliva são marcas comerciais das respetivas empresas.

PCR é um processo patenteado da Hoffman-La Roche. A utilização do processo PCR requer uma licença.