

Affymetrix® Kit de Reagentes para Determinação do Perfil Genético

Kit para Controlo do RNA



Uso indicado

Para uso em diagnóstico in vitro

Os Reagentes para Determinação do Perfil Genético Affymetrix® destinam-se à preparação de RNA alvo complementar marcado, a partir de RNA total purificado proveniente de espécimes de tecido clínico, fresco ou congelado, para hibridação de microarrays Affymetrix GeneChip® e para a medição dos sinais de fluorescência do RNA alvo marcado, utilizando o Affymetrix GeneChip® Microarray Instrumentation System (Sistema para instrumentação de microarrays).

Destina-se a ser utilizado com ensaios para microarray Affymetrix GeneChip aprovado pela FDA separadamente, que especifique a indicação de Reagentes para Determinação do Perfil Genético Affymetrix.

Resumo

O kit para controlo do RNA foi especificamente concebido para fornecer controlos positivos exógenos para monitorizar todo o processo de síntese e marcação de alvos eucarióticos. Cada array probe de eucarióticos contém conjuntos de sondas para diversos genes de *B. subtilis* que estão ausentes nas amostras analisadas (*lys*, *phe*, e *dap*). O kit para controlo do RNA, contém transcriptos poliadenilados, sintetizados *in vitro* para estes genes de *B. subtilis* que estão pré-misturados em concentrações alternadas para permitir aos utilizadores dos probe array avaliar o sucesso global do ensaio. O controlo Poly-A concentrado pode ser diluído com o tampão de diluição (fornecido com o kit) e adicionado directamente às amostras de RNA total para atingir as concentrações finais resumidas abaixo (designadas pelo rácio do número de cópias):

Controlo Poly-A (Poly-A Control)	Concentração final
<i>lys</i>	1:100 000
<i>phe</i>	1:50 000
<i>dap</i>	1:6 667

Os controlos são depois amplificados e marcados juntamente com as amostras. O exame das intensidades de hibridação destes controlos nos arrays, ajuda os utilizadores a monitorizar o processo de amplificação e marcação, independentemente da qualidade das amostras iniciais de RNA total. O *Guia do Utilizador dos Reagentes para Determinação do Perfil Genético Affymetrix* apresenta procedimentos detalhados para a utilização deste kit.

Componentes do kit

O certificado de análise está disponível no site da Affymetrix.

Componente	P/N	Volume	Armazenamento
Kit para controlo do RNA P/N 901285			
Controlo Poly-A (Poly-A Control)	901284	16 µl	-15 a -30 °C
Tampão de diluição (Dilution Buffer)	901283	3,8 ml	-15 a -30 °C

Outros Reagentes para Determinação do Perfil Genético não fornecidos com este kit

Componente	P/N
Kit A, B para Síntese e Marcação de Transcriptos	901286
Kit A, B, C para Detecção de Transcriptos	901299

Advertências e precauções

1. Para uso em diagnóstico in vitro.
2. Evite a contaminação microbiana, que pode causar resultados errados.
3. Todos os espécimes e materiais biológicos com os quais entrem em contacto devem ser manuseados como materiais passíveis de transmitir infecção e eliminados com os cuidados adequados, em conformidade com a legislação nacional e local em vigor. Este procedimento inclui o cumprimento da norma OSHA relativa a padrão de patógenos transmitidos pelo sangue (Bloodborne Pathogens Standard [29 CFR 1910.1030]) para sangue e outros materiais potencialmente infecciosos abrangidos por esta lei. Nunca pipetar com a boca. Evite o contacto dos espécimes com a pele e membranas mucosas.
4. Adopte os cuidados padrão durante a obtenção, manuseamento e eliminação de reagentes potencialmente cancerígenos.
5. Proceda com cuidado para evitar a contaminação cruzada de amostras durante todos os passos deste procedimento, em virtude de esta situação poder originar resultados errados.
6. Sempre que possível, utilize luvas sem pó para minimizar a introdução de partículas de pó em amostras ou materiais do kit.
7. Uma vez aberto, este produto permanece estável durante 30 dias quando armazenado à temperatura recomendada.
8. Foi demonstrado que o desempenho do kit não foi afectado até ao oitavo ciclo de congelamento-descongelamento.

Informação sobre segurança

As folhas de segurança de materiais (MSDS) estão disponíveis em www.affymetrix.com. Se o produto for um kit ou incluir mais de um material, consulte a MSDS relativa a cada componente para obter informações sobre os riscos.

Indicações de instabilidade ou deterioração

Inspeccione as embalagens à chegada. Se o rótulo de segurança se encontrar aberto nas perfurações, não utilize o conteúdo da embalagem. Para assistência ao cliente ou assistência técnica, contacte a Affymetrix.

Procedimentos de trabalho

O controlo Poly-A e o tampão de diluição são fornecidos com o kit para preparar as diluições série adequadas, baseadas na quantidade inicial de RNA total (Quadro 1.0). Estes valores constituem uma orientação quando se utilizam 100, 200, 500 ou 1 000 ng do RNA total como material de partida. Para quantidades intermédias de material de partida, é necessário calcular as diluições adequadas para atingir a mesma concentração final proporcional dos controlos spike-in nas amostras.

O *Guia do Utilizador dos Reagentes para Determinação do Perfil Genético Affymetrix* apresenta passos e instruções pormenorizadas para os procedimentos anteriormente referidos e está disponível em www.affymetrix.com.

Quadro 1.0: Diluições série do controlo Poly-A

Quantidade inicial de RNA total	Diluições série				Volume a adicionar ao RNA total
	Primeiro	Segundo	Terceiro	Quarto	
100 ng	1:20	1:50	1:50	1:5	1 µl
200 ng	1:20	1:50	1:50	1:2,5	1 µl
500 ng	1:20	1:50	1:50		1 µl
1 000 ng	1:20	1:50	1:25		1 µl

Por exemplo, para preparar as diluições de Poly-A para 200 ng de RNA total:

1. Marque 4 tubos de centrifuga, antiaderentes e RNase-free, com as indicações 1ª, 2ª, 3ª e 4ª diluição.
2. Depois de descongelar o tampão de diluição à temperatura ambiente, pipete 38 µl do tampão de diluição para o tubo da 1ª diluição, 98 µl do tampão de diluição para os tubos da 2ª e 3ª diluições, e 6 µl do tampão de diluição para o tubo da 4ª diluição. Volte a colocar o tampão de diluição no congelador. Mantenha os tubos à temperatura ambiente.
3. Descongele o controlo Poly-A à temperatura ambiente. Depois de descongelar, misture agitando o tubo e centrifugue para colher o líquido do fundo do tubo. Avance imediatamente para o Passo 4.
4. Adicione 2 µl da solução de controlo Poly-A aos 38 µl de tampão de diluição do tubo da 1ª diluição (1:20). Volte a colocar o controlo Poly-A no congelador.
5. Misture na íntegra, agitando o tubo manualmente, e centrifugue para colher o líquido do fundo do tubo.
6. Adicione 2 µl da 1ª diluição a 98 µl de tampão de diluição do tubo da 2ª diluição (1:50).
7. Misture na íntegra, através de agitação manual, e centrifugue para colher o líquido do fundo do tubo.
8. Adicione 2 µl da 2ª diluição a 98 µl de tampão de diluição do tubo da 3ª diluição (1:50).
9. Misture na íntegra, através de agitação manual, e centrifugue para colher o líquido do fundo do tubo.
10. Adicione 4 µl da 3ª diluição a 6 µl de tampão de diluição do tubo da 4ª diluição (1:2,5).
11. Misture na íntegra, através de agitação manual, e centrifugue para colher o líquido do fundo do tubo.
12. Utilize a 4ª diluição para preparar a solução descrita, em Preparação da reacção de síntese da 1ª cadeia de cDNA.

O Guia do Utilizador dos Reagentes para Determinação do Perfil Genético Affymetrix apresenta passos e instruções pormenorizadas para os procedimentos anteriormente referidos, e está disponível em www.affymetrix.com.

Limitações do procedimento

O armazenamento e manuseamento adequado dos reagentes e das amostras é essencial para o desempenho. Não guarde o Kit de Controlo de RNA num congelador frost-free. Todo o equipamento laboratorial utilizado para preparar o alvo durante este procedimento deve estar calibrado e em bom estado de manutenção para garantir a precisão. Uma medição incorrecta dos reagentes pode afectar o resultado do procedimento.

Licença limitada

Em conformidade com os termos e condições da Affymetrix, que regem a utilização dos produtos Affymetrix, a Affymetrix concede-lhe uma licença não exclusiva, não transferível e não sublicenciável de utilização deste produto Affymetrix, apenas de acordo com o manual e instruções escritas fornecidas pela Affymetrix. Você compreende e concorda que, exceptuando o expressamente definido nos termos e condições Affymetrix, não está coberto nem implícito por este produto Affymetrix qualquer direito ou licença em relação a qualquer patente ou outra propriedade intelectual que seja propriedade ou licenciável pela Affymetrix. Em particular, não é transmitido qualquer direito ou licença para utilizar este produto Affymetrix em combinação com um produto não fornecido, licenciado ou especialmente recomendado pela Affymetrix para essa utilização.

Marcas comerciais

Affymetrix®, Axiom™, Command Console®, DMET™, GeneAtlas™, GeneChip®, GeneChip-compatible™, GeneTitan®, Genotyping Console™, myDesign™, NetAffx®, OncoScan™, Powered by Affymetrix™, Procarta®, e QuantiGene® são marcas comerciais ou marcas registadas da Affymetrix, Inc.

Asuragen® é uma marca comercial registada da Asuragen, Inc.

Todas as outras marcas comerciais são propriedade dos respectivos proprietários.













Copyright

© 2009-2011 Affymetrix, Inc. Todos os direitos reservados.

Quadro de símbolos

O quadro abaixo apresenta a legenda dos símbolos gráficos utilizados nos rótulos do produto Affymetrix, nos Folhetos Informativos e no Guia do Utilizador.

Quadro 2.0: Símbolos gráficos para uso na rotulagem

Símbolo / rótulo	Definição
	Nº da peça/de catálogo
	Número do lote
	Data de Validade AAAA-MM, A data de validade do kit termina no último dia do mês.
	Limitação da temperatura
	Contém o suficiente para < n > testes
	Irritante
	Perigos
	Consultar as Instruções de Utilização
	Fabricante
	Apenas para avaliação do desempenho em diagnóstico <i>in vitro</i>
	Conformidade Europeia
	Representante autorizado na União Europeia

No site da Affymetrix estão disponíveis versões traduzidas desta literatura.

Contactos

 Affymetrix, Inc.,
3420 Central Expressway,
Santa Clara, CA 95051 EUA
Fabricado pela Asuragen® para a Affymetrix, Inc.

 Emergo Europe
Molenstraat 15
2513 BH, The Hague
Países Baixos
Telefone: +31.70.345.8570
Fax: +31.70.346.7299

Para assistência técnica, contacte a Affymetrix através do endereço de correio electrónico ou número de telefone indicados abaixo.

Affymetrix, Inc.

3420 Central Expressway
Santa Clara, CA 95051 EUA
Correio electrónico: support@affymetrix.com
Tel: 1-888-362-2447 (1-888-DNA-CHIP)
Fax: 1-408-731-5441

Affymetrix UK Ltd

Voyager, Mercury Park,
Wycombe Lane, Wooburn Green,
High Wycombe HP10 0HH
Reino Unido
Correio electrónico: supporteurope@affymetrix.com
Tel: +44 (0) 1628 552550
Fax: +44 (0) 1628 552585
www.affymetrix.com