



Recuperação de DNA de amostras coletadas com esponjas no Oragene® disc kit†

Este protocolo foi criado como método sugerido para extração de DNA de amostras de saliva que foram coletadas de bebês ou crianças pequenas que não conseguem cuspir.

Após a coleta, as amostras de saliva/Oragene® permanecem estáveis em temperatura ambiente durante anos e sem processamento. Aquecer as amostras conforme indicado abaixo (etapa 1) assegura que o DNA será distribuído de maneira uniforme nas esponjas e no líquido livre. Se 5 esponjas forem utilizadas para coletar saliva, aproximadamente ½ do líquido ficará presa nas esponjas e a outra ½ ficará livre.

Para recuperar DNA de amostras de saliva coletadas com esponjas, recomendamos os seguintes métodos:

- Se você precisar de DNA para um pequeno número de testes ou desejar uma estimativa rápida e precisa da quantidade total de DNA coletado, prossiga com o método A.
- Se desejar recuperar DNA de uma amostra total para uma bateria de testes, prossiga com o método B.

De forma alternativa, é possível purificar DNA de uma amostra com os métodos A e B. Por exemplo, é possível estimar rapidamente a quantidade total de DNA em uma amostra e executar alguns testes preliminares ao purificar uma pequena alíquota (método A), armazenar a amostra em temperatura ambiente até que todas as amostras tenham sido coletadas para o estudo e, então, prosseguir com o método B para recuperar o restante do DNA. DNA recuperado do mesmo doador utilizando os métodos A e B pode ser agrupado.

Método A: purificação de DNA a partir de uma alíquota de 0,5 mL

1. Verifique se a tampa do kit Oragene está fechada firmemente. Misture suavemente por inversão 5 vezes. Incube a 50 °C durante 1 hora em banho-maria ou por 2 horas em uma incubadora de ar.
2. Abra cuidadosamente o kit e remova 0,5 mL do líquido livre.
3. Purifique o DNA de acordo com o prepIT®•L2P *Laboratory protocol for manual purification of DNA from 0.5 mL of sample*¹ [Protocolo laboratorial para purificação manual de DNA a partir de 0,5 mL de amostra].

Método B: purificação de DNA a partir de uma amostra inteira

1. Verifique se a tampa do kit Oragene está fechada firmemente. Misture suavemente por inversão 5 vezes. Incube a 50 °C durante 1 hora em banho-maria ou por 2 horas em uma incubadora de ar.
2. Remova o máximo possível de líquido livre e transfira-o para um tubo de centrifuga cônico de 15 mL.
3. Coloque o corpo de uma seringa plástica descartável de 5 mL (sem o êmbolo) dentro mesmo tubo cônico de 15 mL.



Corpo da seringa com esponjas inseridas no tubo cônico para centrifuga.

† Amostras de saliva foram coletadas com Oragene®-DNA ou Oragene®-DISCOVER.

4. Utilizando uma pinça fina, transfira as esponjas da base azul para dentro do corpo da seringa.
5. Centrifugue o corpo da seringa contendo esponjas no tubo cônico a $200 \times g$ (p. ex.: 1.000 rpm em uma centrífuga Sorvall RT6000D) por 10 minutos a 20 °C.
6. Remova e descarte o corpo da seringa contendo as esponjas secas.
7. O DNA pode ser extraído do líquido de saliva/Oragene no tubo da centrífuga seguindo as instruções no prepIT•L2P *Laboratory protocol for manual purification of DNA from whole sample*² [Protocolo laboratorial para purificação manual de DNA de amostra inteira]. Verifique se os volumes de reagentes utilizados neste protocolo para uma amostra de 4 mL estão ajustados para o volume real de líquido de saliva/DNA recuperado de amostras coletadas com esponjas para coleta de saliva.

Referências

- ¹ Laboratory protocol for manual purification of DNA from 0.5 mL of sample. DNA Genotek. PD-PR-006.
- ² Laboratory protocol for manual purification of DNA from whole sample. DNA Genotek. PD-PR-015.

Suporte técnico disponível de segunda a sexta (das 9h às 17h ET):

- Ligação gratuita (América do Norte): 1.866.813.6354, opção 6
- Todos os demais países: 613.723.5757, opção 6
- Email: support@dnagenotek.com

O Oragene®-DNA não está à venda nos Estados Unidos.

O Oragene®-DISCOVER destina-se exclusivamente ao uso em pesquisas. Não usar em procedimentos diagnósticos.

*Oragene e prepIT são marcas registradas da DNA Genotek Inc. Todas as demais marcas e nomes contidos neste documento são de propriedade dos seus respectivos donos.

Todos os protocolos, livros brancos e descrições de uso da DNA Genotek estão disponíveis na seção de suporte de nosso site www.dnagenotek.com.