

2021. január

# QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA Blood Mini Kit használati útmutató (kézikönyv)



2. verzió



In vitro diagnosztikai használatra



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden  
Tel.: +49-2103-29-0



1122788HU



# Tartalom

Alkalmazási terület .....	5
Leírás és működési elv.....	6
A vérszövetek tisztítása .....	6
A genomális DNS bekötése a QIAamp Mini spin oszlop membránjára .....	6
Automatikus tisztítás QIAcube / QIAcube Connect MDx készülék alkalmazásával...7	
Összefoglalás és magyarázat .....	11
Szállított anyagok .....	12
A kit tartalma .....	12
Szükséges, de nem biztosított anyagok.....	13
Figyelmeztetések és óvintézkedések .....	15
Biztonsági információk .....	15
A reagensek tárolása és kezelése.....	17
Mintatárolás és -kezelés.....	17
A visszamaradt szennyeződések eltávolítása .....	19
A tiszta genomális DNS eluálása .....	19
Fontos megjegyzések.....	19
A protokoll megkezdése előtt figyelembe veendő fontos szempontok .....	19
A reagensek és a pufferek előkészítése .....	20
A QIAamp Mini spin oszlopok kezelése .....	21
A genomális DNS eluálása.....	22
A genomális DNS hozama és minősége .....	22
A QIAvac 24 Plus vákuumrendszer összeállítása .....	23

---

Eljárás .....	25
Protokoll: Genomiális DNS vérmintákból történő izolálása és tisztítása vákuumrendszer segítségével.....	25
Protokoll: Genomiális DNS vérmintákból történő izolálása és tisztítása mikrocentrifuga vagy QIAcube / QIAcube Connect MDx készülék segítségével.....	29
Minőség-ellenőrzés .....	33
Korlátozások.....	33
Teljesítményjellemzők .....	34
Szimbólumok.....	39
Rendelési információk .....	41
A dokumentum átdolgozási előzményei .....	43

---

## Alkalmazási terület

A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit rendszer szilikagélmembrán-technológiát (QIAamp technológia) alkalmaz a genomiális DNS biológiai mintákból történő izolálásához és tisztításához.

A termék csak a molekuláris biológiai technikák területén járatos, szakképzett szakemberek, pl. labortechnikusok és orvosok általi használatra készült.

A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kizárólag in vitro diagnosztikai használatra szolgál.

# Leírás és működési elv

Minden QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárás 4 lépésből áll:

- A vérmintában található sejtek lizálása
- A sejtlyúzumban található genomiális DNS bekötése a QIAamp Mini spin oszlop membránjára
- A membrán átmosása
- A genomiális DNS eluálása a membránról

A jelen kézikönyv 2 alternatív QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárás protokollját tartalmazza: a spin oszlopos eljárását, amelyhez centrifugára van szükség, valamint a vákuumos eljárását, amelyhez centrifugára és vákuumos rendszerre van szükség (lásd 10. oldal, folyamatábra). A spin oszlopos eljárás a QIAcube és a QIAcube Connect MDx készülékek alkalmazásával automatizálható.

## A véresejtek lizálása

A minták lizálása denaturáló körülmények között, magas hőmérsékleten történik. A lízis QIAGEN Protease (QP) és lízispuffer (AL) jelenlétében megy végbe.

## A genomiális DNS bekötése a QIAamp Mini spin oszlop membránjára

A genomiális DNS QIAamp Mini spin oszlop membránjához való kötődésének optimalizálása érdekében először etanolt kell adni a lizátumhoz. Ezt követően minden lizátumot felvisznek a QIAamp Mini spin oszlopokra, ahol a vákuumnyomás vagy a centrifugális erő átszívja a szilikagélmembránon a lizátumot, ezáltal adszorbeálva a genomiális DNS-t.

---

## Automatikus tisztítás QIAcube / QIAcube Connect MDx készülék alkalmazásával

A QIAcube és a QIAcube Connect MDx készülék a nukleinsavak automatizált izolálására és tisztítására szolgál. Futtatásonként legfeljebb 12 minta feldolgozására képes.

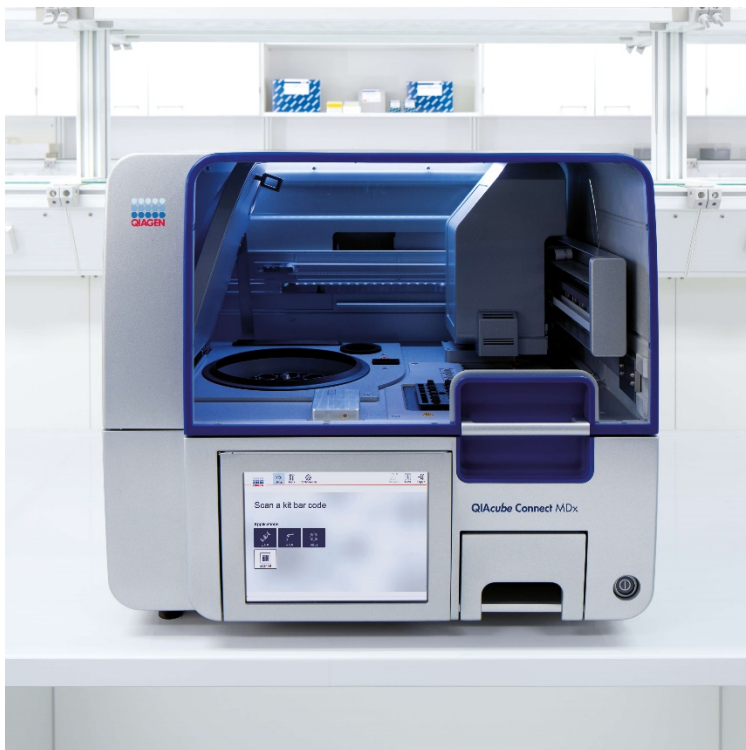
A QIAcube és a QIAcube Connect MDx alkalmazása esetén a minta-előkészítés lépései megegyeznek a manuális eljárás során alkalmazott lépésekkel (pl. lizálás, kötés, mosás és eluálás) – ez lehetővé teszi a QIAamp DSP DNA Mini Kit további használatát jó minőségű DNS tisztítása céljából.

A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit felhasználásával QIAcube vagy QIAcube Connect MDx készüléken történő automatizálás esetén előfordulhat, hogy kevesebb mint 50 minta feldolgozása lehetséges a holtterképződés, a párologás, valamint a reagensek automatikus pipettázás következtében fellépő többletfelhasználása miatt. A QIAGEN 50 minta feldolgozását csak a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit manuális felhasználása esetén garantálja.








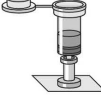

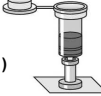

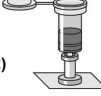






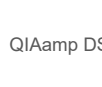
**1. ábra: A QIAcube készülék**





**2. ábra: A QIAcube Connect MDx készülék**

## A QIAamp DSP DNA Blood Mini spin oszlopos és vákuumos eljárások

A QIAamp spin oszlopos eljárás	A QIAamp vákuumos eljárás	
Minta 	Minta 	
	Lízis 	
	Kötés 	
	Vákuum 	
Mosás (Buffer AW1) 	Vákuum 	
	Vákuum 	
Mosás (Buffer AW2) 	Vákuum 	
	Vákuum 	
Elúció 	Elúció 	
<b>Tiszta genomiális vagy virális DNS</b>		

**A műveletek megkezdése előtt figyelmesen olvassa el a protokollokat (25. és 29. oldal).**

**Egy LT csőbe mérjen 20 µl QP oldatot, 200 µl mintát és 200 µl AL oldatot, majd keverje vortex keverővel 15 másodpercig. Inkubálja 10 percen keresztül (±1 perc) 56 °C-on (±1 °C) Adjon hozzá 200 µl etanolot. Keverje vortex keverővel 15 másodpercig.**

**Vigye át a lizátumot QIAamp Mini spin oszlopra. Spin oszlopos eljárás: Centrifugálja 1 percig 6000 x g-vel.**

**Vákuumos eljárás: Alkalmazzon vákuumot.**

**Spin oszlopos eljárás: helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy új WT csőbe, adjon hozzá 500 µl AW1 oldatot, majd centrifugálja 1 percig 6000 x g-vel.**

**Vákuumos eljárás: Adjon hozzá 750 µl AW1 oldatot, majd alkalmazzon vákuumot.**

**Spin oszlopos eljárás: helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy új WT csőbe, adjon hozzá 500 µl AW2 oldatot, majd maximális sebességgel (körülbelül 20 000 x g vagy 14 000 rpm) centrifugálja 1 percig.**

**Vákuumos eljárás: Adjon hozzá 750 µl AW2 oldatot, majd alkalmazzon vákuumot.**

**Helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy WT csőbe.**

**Maximális sebességgel (körülbelül 20 000 x g vagy 14 000 rpm) centrifugálja 3 percig.**

**Helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy ET csőbe.**

**Adjon hozzá 50–200 µl AE oldatot, és inkubálja 1 percig.**

**Centrifugálja 1 percig 6000 x g-vel.**

---

## Összefoglalás és magyarázat

A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit jól kidolgozott technológiát alkalmaz a genomiális DNS 200 µl teljes vérből történő gyors és egyszerű izolálására és tisztítására.








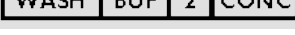

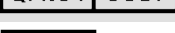


A több vérminta párhuzamosan történő feldolgozására szolgáló QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárások eredményeképp használtra kész, tisztított DNS keletkezik. Az eljárások friss vagy fagyasztott teljes véren, továbbá citráttal vagy EDTA-val kezelt véren is elvégezhetők.

Az egyszerű QIAamp DSP spin oszlopos vagy vákuumos eljárások alkalmasak több minta párhuzamos feldolgozására. A standardizálás javítása és a használat megkönnyítése érdekében a QIAcube és a QIAcube Connect MDx készülékeken egyes QIAamp spin oszlopos eljárások teljes mértékben automatizálhatók (7. oldal).

Nincs szükség a fehérvérsejtek előzetes elválasztására. Az eljárások során nincs szükség sem fenol/kloroform extrakciójára, sem alkohol precipitációjára, továbbá azok minimális közreműködést igényelnek a felhasználó részéről, ami lehetővé teszi a potenciálisan fertőző minták biztonságos kezelését. Az eljárásokat úgy fejlesztették ki, hogy minimalizálják a minták közötti keresztszennyeződés esélyét. A tisztított DNS PCR vagy más alkalmazás segítségével felhasználható, vagy  $-25\text{ °C}$  és  $-15\text{ °C}$  közötti hőmérsékleten tárolható későbbi felhasználás céljából.

# Szállított anyagok

## A kit tartalma

<b>QIAamp DSP DNA Blood Mini kit</b>			
<b>Katalógusszám</b>			<b>61104</b>
<b>Elvégezhető preparálások száma</b>			<b>50*</b>
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (QIAamp Mini Spin Columns mosócsövekkel) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (elúciós csövek) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (líziscsövek) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (mosócsövek) (2 ml)		3 × 50
AL	Lysis Buffer <sup>†</sup> (lízispuffer)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 <sup>†</sup> (1. mosópuffer) (koncentrátum)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 <sup>†</sup> (2. mosópuffer) (koncentrátum)		13 ml
AE	Elution Buffer <sup>‡</sup> (eluáló puffer)		25 ml
PS	Protease Solvent <sup>‡</sup> (proteáz oldószer)		2 ml
QP	QIAGEN Protease <sup>§</sup>		1 üveg
-	Használati útmutató (kézikönyv)		1

\* A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit felhasználásával QIAcube vagy QIAcube Connect MDx készüléken történő automatizálás esetén előfordulhat, hogy a készüléken kevesebb mint 50 minta feldolgozása lehetséges a holttérféleződés, a párolgás, valamint a reagensek automatikus pipettázás következtében fellépő többletfelhasználása miatt. A QIAGEN 50 minta feldolgozását csak a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit manuális felhasználása esetén garantálja.

<sup>†</sup> Guanidin-hidrokloridot tartalmaz. Hipót tartalmazó fertőtlenítőszerrel együtt nem használható. További információért lásd Biztonsági információk, 14. oldal.

<sup>‡</sup> Tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz.

<sup>§</sup> Reszuszpenziós térfogat: 1,2 ml. Lásd „A reagensek és a pufferek előkészítése”, 19. oldal.

## Szükséges, de nem biztosított anyagok

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheets, SDS-ek) tartalmazznak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetők be.

### A spin oszlopos és a vákuumos eljáráshoz szükséges anyagok

- Etanol (96–100%-os)
- Pipetták\* és pipettahegyek (a keresztszennyeződés megelőzése érdekében erősen javasolt aeroszol elleni gáttal ellátott pipettahegyek használata)
- Egyszer használatos kesztyű
- Fűtőblokk\* a minták 56 °C-on történő lizálásához (az 1,5 ml-es mikrotesztsövekhez† fűtőblokkal ellátott Eppendorf® Thermomixer® comfort készüléket javasolt használni)
- Mikrocentrifuga\*
- Mérőhenger (50 ml)
- Vortex keverő

### Kizárólag vákuumos eljárás esetén szükséges anyagok

- QIAvac 24 Plus (katalógusszám: 19413) vagy ezzel egyenértékű vákuumrendszer
- VacConnectors vákuumcsatlakozók (katalógusszám: 19407)
- VacValves vákuumszelepek (katalógusszám: 19408)
- QIAvac Connecting System csatlakozórendszer (katalógusszám: 19419)
- Vacuum Pump vákuumszivattyú (katalógusszám: 84020)
- Vacuum Regulator vákuumszabályozó (katalógusszám: 19530)

\* Annak biztosítása érdekében, hogy a minták QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárással történő feldolgozása megfelelően menjen végbe, erősen ajánlott az eszközök (pl. pipetták és fűtőblokkok) kalibrálása a gyártó ajánlásai szerint.

† A lista nem tartalmazza az összes beszállítót, és nem szerepel rajta számos fontos, biológiai termékeket forgalmazó cég.

---

## Kizárólag automatizált eljárás esetén szükséges anyagok

- Rotor Adapter rotoradapterek (katalógusszám: 990394)
- Rotor Adapter Holder rotoradapertartó (katalógusszám: 990392)
- Sample Tube CB mintacsövek (katalógusszám: 990382) (mintabeviteli cső)
- Shaker Rack Plug csatlakozók rázógéptartóállványhoz (katalógusszám: 9017854)
- Reagent Bottles reagenspalackok, 30 ml (katalógusszám: 990393)
- Filter Tip szűrős pipettahegyek, 1000 µl (katalógusszám: 990352)
- Filter Tip szűrős pipettahegyek, 200 µl (katalógusszám: 990332)
- SafeSeal Tube cső, 1,5 ml, Sarstedt® (katalógusszám: 72.706)

# Figyelmeztetések és óvintézkedések

Tartsa szem előtt, hogy szükséges lehet az eszközzel összefüggésben fellépő súlyos események jelentése a gyártó, valamint a felhasználó és/vagy a beteg tartózkodási helye szerinti illetékes szabályozó hatóság felé.

## Biztonsági információk

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheets, SDS-ek) tartalmazznak. Az egyes QIAGEN kitek és összetevők biztonsági adatlapjai praktikus és kisméretű PDF-fájl formájában online megtalálhatók, megtekinthetők és kinyomtathatók a [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) weboldalon.



**FIGYELEM!** SOHA NE adjon hipót vagy savat tartalmazó oldatot közvetlenül a minta-előkészítés hulladékához.

A lízispuffer (AL) és az 1. mosópuffer (AW1) guanidin-hidrokloridot tartalmaz, amely hipóval keverve rendkívül reakcióképes vegyületeket képezhet. Ha ilyen puffereket tartalmazó folyadék ömlik ki, takarítsa fel megfelelő laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel. Ha potenciálisan fertőző anyagot tartalmazó folyadék ömlik ki, először tisztítsa meg az érintett felületet laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel, majd 1%-os (v/v) nátrium-hipoklorittal. Ha a pufferes palackok megsérülnek vagy tartalmuk szivárog, a palackok ártalmatlanítása során az Önt és másokat fenyegető személyi sérülések elkerülése érdekében viseljen kesztyűt és védőszemüveget.

A QIAGEN nem vizsgálta, hogy a QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárások során keletkező folyékony hulladék tartalmaz-e fertőző anyagmaradványt. A folyékony hulladék fertőző anyagmaradvánnyal való szennyeződése valószínűtlen, de teljes mértékben nem kizárható esemény. Ebből kifolyólag a folyékony hulladék fertőző anyagnak tekintendő, így kezelése és ártalmatlanítása során a helyi biztonsági előírásoknak megfelelően kell eljárni.

A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit összetevőire az alábbi H és P mondatok vonatkoznak.

### Lízispuffer (AL) és 1. mosópuffer (AW1)



Guanidin-hidrokloridot tartalmaz. Vigyázat! Lenyelve vagy belélegezve ártalmas. Bőrirritáló hatású. Súlyos szemirritációt okoz. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

### QIAGEN Protease (QP)



Szubtilizint tartalmaz. Veszély! Lenyelve ártalmas. Bőrirritáló hatású. Súlyos szemkárosodást okoz. Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. Légúti irritációt okozhat. Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belégzését.



Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.



Légzésvédelem használata kötelező. SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz. Az érintett személyt friss levegőre kell vinni és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni.



# A reagensek tárolása és kezelése

A QIAamp Mini spin oszlopokat az átvételüktől kezdve 2–8 °C-on kell tárolni, és az oszlopok a kit dobozán feltüntetett lejárati dátumig használhatók.

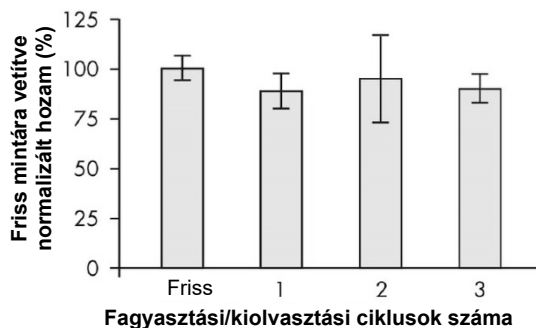
Minden puffer szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) tárolható a kit dobozán feltüntetett lejárati dátumig.

A liofilizált QIAGEN Protease (QP) szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolható a kit lejárati dátumáig anélkül, hogy romlana a teljesítménye. Az előkészített QIAGEN Protease 2–8 °C-on tárolva legfeljebb 1 évig, vagy a kit lejárati dátumáig tekinthető stabilnak.

Az előkészített 1. mosópuffer (AW1) és az előkészített 2. mosópuffer (AW2) szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolva legfeljebb 1 évig, vagy a kit lejárati dátumáig tekinthető stabilnak.

## Mintatárolás és -kezelés

A fagyasztott minták kiolvasztása során keletkező krioprecipitátumok eltömítik a QIAamp Mini spin oszlop membránját. Ha krioprecipitátumok láthatók a mintában, a mintafelszívás során kerülje azok felszívását. Meghatározásra került a vérminták fagyasztási-kiolvasztási ciklusának hatása a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit felhasználásával végzett DNS-tisztításra (lásd 3. ábra).



**3. ábra: A vérminták fagyasztásának és kiolvasztásának hatásai.** Az EDTA-val kezelt vérminták legfeljebb 3 alkalommal fagyasztási/kiolvasztási cikluson, majd a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit felhasználásával DNS-tisztításon estek át. A számított DNS-hozamot friss mintára vetítve normalizálták (100%). A grafikonon feltüntetett minden oszlop 32 párhuzamos minta eredményét mutatja (átlag ± szórás).

A QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárás során keletkező tisztított DNS mennyisége függ az egyes vérminták fehérvérsejt-tartalmától. A spin oszlopos vagy a vákuumos eljárás segítségével egészséges donoroktól származó 200 µl vérmintából történt genomiális DNS tisztítása. Számos, különböző típusú elsődleges cső és antikoaguláns segítségével elvégezhető a QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárásokhoz szükséges vérminták gyűjtése (1. táblázat).

**1. táblázat: Különböző elsődleges csövek és antikoagulánsok felhasználásával gyűjtött vérminták átlagos relatív DNS-hozama**

Elsődleges cső	Gyártó	Katalógusszám	Névleges térfogat	Átlagos hozam*
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

Egészséges donoroktól származó 200 µl vérmintából történt a genomiális DNS tisztítása (4,0–9,0 x 10<sup>6</sup> sejt/ml).

\* Minden elsődleges csőtípus esetén az átlagos hozam meghatározása 11 különböző, három példányban meglévő minta alapján történt.

## A visszamaradt szennyeződések eltávolítása

Míg a genomiális DNS kötve marad a QIAamp Mini Spin Column membránjához, a szennyeződések hatékonyan kimoshatók először az 1. mosópuffer (AW1), majd a 2. mosópuffer (AW2) alkalmazásával.

## A tiszta genomiális DNS eluálása

A genomiális DNS QIAamp Mini Spin Column membránjáról való eluálása 50–200 µl eluáló puffer (AE) segítségével történik. Az eluált DNS készen áll a további assay-k során való felhasználásra, beleértve további különféle in vitro diagnosztikai assay-eket is.

## Fontos megjegyzések

### A protokoll megkezdése előtt figyelembe veendő fontos szempontok

- A kit átvételét követően ellenőrizze a kit összetevőinek épségét. Ha a buborékcsomagolások vagy a pufferes palackok sérültek, lépjen kapcsolatba a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatával vagy a helyi forgalmazóval. Folyadék kiömlése esetén lásd „Biztonsági információk” (15. oldal). Tilos felhasználni a kit sérült összetevőit, mivel a használatuk csökkentheti a kit teljesítőképességét.
- Az egyes folyadékátviteltek között mindig cseréljen pipettahegyet. A keresztszennyeződés esélyének minimalizálása érdekében aeroszol elleni gáttal ellátott pipettahegyek használata javasolt.
- Minden centrifugálási lépés szobahőmérsékleten (15–25 °C-on) végzendő.
- Mindig használjon egyszer használatos kesztyűket, és rendszeresen ellenőrizze, hogy nem szennyeződtek-e mintaanyaggal. A szennyezett kesztyűket dobja el.
- A keresztszennyeződés esélyének minimalizálása érdekében egyszerre csak egy tesztcsövet nyisson ki.

- Az aktuálisan használt kittel ne használjon más kitből származó összetevőket, hacsak nem egyezik meg a két kit tételszáma.
- Kerülje a kit reagenseinek mikrobiális szennyeződését.
- A potenciálisan fertőző anyagok által okozott fertőzési kockázat minimalizálása érdekében a minták lizálási lépésének befejezéséig javasolt lamináris légáramlás mellett dolgozni.
- A kitet csak az in vitro diagnosztikai laboratóriumi gyakorlat terén képzett személyzet használhatja.

## A reagensek és a pufferek előkészítése

- A QIAGEN Protease előkészítése

A liofilizált QIAGEN Protease (QP) tartalmú üveghez adjon 1,2 ml proteáz oldószert (PS), és óvatosan keverje őket össze. A habképződés elkerülése érdekében az üveg többszöri átfordításával végezze a keverést. Gondoskodjon arról, hogy a QIAGEN Protease (QP) teljesen feloldódjon.

**Fontos:** Ne adjon QIAGEN Protease (QP) enzimet közvetlenül a lízispufferhez (AL).

- A 1. mosópuffer előkészítése

Egy mérőhenger segítségével adjon 25 ml (96–100%-os) etanolt a 19 ml 1. mosópuffer (AW1) koncentrátumot tartalmazó üveghez. Az előkészített 1. mosópuffert (AW1) szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolja.

**Fontos:** Az eljárás megkezdése előtt a palackot többször átfordítva mindig keverje össze az előkészített 1. mosópuffert (AW1).

- A 2. mosópuffer előkészítése

Egy mérőhenger segítségével adjon 30 ml (96–100%-os) etanolt a 13 ml 2. mosópuffer (AW2) koncentrátumot tartalmazó üveghez. Az előkészített 2. mosópuffert (AW2) szobahőmérsékleten (15–25 °C) tárolja.

**Fontos:** Az eljárás megkezdése előtt a palackot többször átfordítva mindig keverje össze az előkészített 2. mosópuffert (AW2).

- Az eluáló puffer előkészítése

A kithoz egy palack eluáló puffer (AE) tartozik. Az eluáló puffer (AE) szennyeződésének megelőzése érdekében az eluáló puffer (AE) palackból való kipipettázása során javasolt aeroszol elleni gáttal ellátott pipettahegyeket használni, majd utána azonnal visszahelyezni a palack kupakját.

**Fontos:** Az eluáló puffer (AE) nátrium-azid tartósítószeret tartalmaz, amely 260 nm-en mutat abszorbanciát. Emiatt amikor az eluátumban lévő DNS mennyiségi meghatározását végzik abszorbanciaméréssel 260 nm-en, amikor az eluátumban lévő DNS tisztaságának meghatározását végzik abszorbanciaméréssel 260 nm-en vagy 280 nm-en, vagy amikor az abszorbanciát vizsgálják a 220 nm és 350 nm közötti tartományban, akkor biztosítani kell, hogy a vakminta az eluátummal azonos koncentrációban tartalmazzon nátrium-azidot. Ha például az eluátum abszorbanciamérésekhez való előkészítése során 50 µl eluátumot 100 µl vízzel hígítanak, a vakminta előkészítése során 50 µl eluáló puffert (AE) 100 µl vízzel kell hígítani. Hígításhoz friss desztillált vizet használjon.

## A QIAamp Mini spin oszlopok kezelése

A nukleinsav-amplifikációs technológiák szenzitivitása miatt az alábbi óvintézkedések szükségesek a QIAamp Mini spin oszlopok kezelésekor az előkészített minták közötti keresztszennyeződés elkerülése érdekében:

- Óvatosan vigye fel a mintát vagy az oldatot a QIAamp Mini spin oszlopra. Amikor a mintát a QIAamp Mini spin oszlopra pipettázza, ügyeljen arra, hogy ne nedvesítse be az oszlop peremét.
- Az egyes folyadékátvitel között mindig cseréljen pipettahegyet. Aeroszol elleni gáttal ellátott pipettahegyek használata javasolt.
- Ne érjen a pipetta hegyével a QIAamp Mini spin oszlop membránjához.
- Az összes pulzáló vortexelési lépés végrehajtását követően a fedelek belső felületén található cseppek eltávolításához röviden centrifugálja a mikrocentrifuga-csőveket.

- Egyszerre csak egy QIAamp Mini spin oszlopot nyisson ki, és ügyeljen arra, hogy ne képződjenek aeroszol részecskék.
- A teljes eljárás során viseljen gumikesztyűt. Amennyiben a kesztyű mintával érintkezik, haladéktalanul vegyen fel új kesztyűt.

## A genomiális DNS eluálása

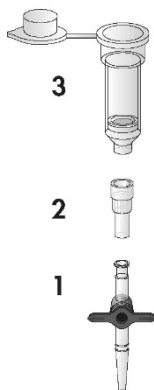
A QIAamp Mini spin oszlopról eluálható DNS térfogata akár 20 µl-el kevesebb is lehet az oszlopra felvitt eluáló puffer (AE) térfogatánál. A visszanyert eluátum térfogata függ a minta jellegétől. Az oszlopra való felvitel előtt hagyni kell szoba-hőmérsékletűre (15–25 °C) melegedni az eluáló puffert (AE). Az eluált DNS-t elúciós csövekbe (ET) kell gyűjteni. A DNS legfeljebb 4 hetes tárolása esetén 2–8 °C-os tárolási hőmérsékletet javasolt alkalmazni. Hosszútávú tárolás esetén a javasolt tárolási hőmérséklet –30 °C és –15 °C közötti.

## A genomiális DNS hozama és minősége

Az izolált genomiális DNS hozama és minősége alkalmassá teszi azt számos további molekuláris diagnosztikai kimutatási eljárás elvégzésére. A diagnosztikai assay-eket a gyártó utasításainak megfelelően kell elvégezni.

## A QIAvac 24 Plus vákuumrendszer összeállítása

Gondoskodjon a QIAamp Mini spin oszlop, a VacConnector vákuumos csatlakozó (VC) és a VacValve vákuumszelep megfelelő összeállításáról (lásd 4. ábra).



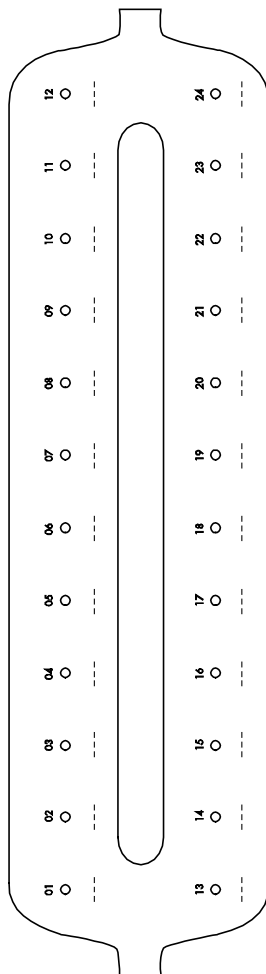
**4. ábra: A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit összetevőinek összeszerelése a minták vákuumos feldolgozásához**  
(1) VacValve vákuumszelep (2) VacConnector vákuumos csatlakozó (VC) (3) QIAamp Mini spin oszlop

A vákuumos eljárás QIAvac 24 Plus vákuumrendszerrel történő elvégzése esetén a minták felcserélésének elkerülése érdekében javasolt az 5. ábrán bemutatott séma alapján elvégezni a líziscsövek (LT), az elúciós csövek (ET) és a QIAamp Mini spin oszlopok címkézését. Ez az ábra lefényezhető, és felírhatók rá a minták nevei. A spin oszlopos eljárás vagy más vákuumrendszerek alkalmazása esetén hasonló séma alkalmazása javasolt.

Dátum: \_\_\_\_\_

Kezelő: \_\_\_\_\_

Futtatási azonosító: \_\_\_\_\_



**5. ábra: A liziscsövek (LT), az elúciós csövek (ET) és a QIAamp Mini spin oszlopok feliratozási sémája a QIAvac 24 Plus vákuumrendszeren való használathoz**



# Eljárás

## Protokoll: Genomiális DNS vérmintákból történő izolálása és tisztítása vákuumrendszer segítségével

Genomiális DNS 200 µl, EDTA-val vagy citráttal kezelt teljes vérből történő izolálásához és tisztításához a QIAvac 24 Plus vákuumrendszerhez hasonló vákuumrendszer használatával.

### Az eljárás megkezdése előtt figyelembe veendő fontos szempontok

Az alábbi eljárás egyetlen vérmintára vonatkozó utasításokat tartalmaz. Ugyanakkor akár 24 minta feldolgozása is elvégezhető egyszerre a QIAvac 24 Plus vákuumrendszer segítségével.

### Teendők az eljárás megkezdése előtt

- Hagyja a vérmintákat szoba-hőmérsékletűre melegedni, és gondoskodjon arról, hogy jól össze legyenek keverve.
- Ha precipitátum képződött a lízispufferben (AL), 56 °C-on inkubálva oldja fel.
- Gondoskodjon arról, hogy az 1. mosópuffer (AW1), a 2. mosópuffer (AW2) és a QIAGEN Protease (QP) a következőkben foglalt utasításoknak megfelelően legyen előkészítve: „A reagensek és a pufferek előkészítése”, 20. oldal.
- Hagyja szoba-hőmérsékletűre melegedni az eluáló puffert (AE), amelyet a 14. lépés során kell majd felhasználni.
- A 4. lépésnél leírt művelethez állítson egy fűtőblokkot 56 °C-ra.
- A keresztszennyeződés esélyének minimalizálása érdekében vezessen egy VacConnector vákuumos csatlakozót (VC) a vákuumrendszer minden Luer-zárás adapterébe.
- A minőség-ellenőrzési eljárás részeként a QIAGEN a forgalomba hozatal előtt mindegyik kit-tételnél funkcionális vizsgálatokat végez. Emiatt nem szabad a különböző kit-tételekhez tartozó reagenseket összekeverni, vagy a különböző reagenstételekhez tartozó reagenseket kombinálni.

- Győződjön meg arról, hogy a vákuumrendszer hulladékgyűjtő palackja üres, és hogy minden csatlakozó megfelelően csatlakozik.
- A vákuumrendszer működtetésével, elsősorban a karbantartással kapcsolatos részletek a mellékelt kézikönyvben találhatóak.

## Eljárás

1. Pipetázzon 20 µl QIAGEN Protease (QP) enzimet egy líziscsőbe (LT).

**Megjegyzés:** Felhasználás előtt ellenőrizze az előkészített proteáz lejárati dátumát.

2. Mérjen 200 µl vérmintát a líziscsőbe (LT).
3. Adjon 200 µl lízispuffert (AL) a líziscsőhöz (LT), zárja le a fedelét, majd pulzáló vortexszel keverje 15 másodpercig.

A hatékony lízis biztosítása érdekében elengedhetetlen, hogy a minta és a lízispuffer (AL) alaposan elkeveredjen, és homogén oldatot képezzen.

**Megjegyzés:** Mivel a lízispuffer (AL) magas viszkozitású anyag, óvatos pipetázással vagy alkalmas pipetta használatával biztosítsa a megfelelő térfogatú lízispuffer (AL) hozzáadását.

**Megjegyzés:** Ne adjon QIAGEN Protease (QP) enzimet közvetlenül a lízispufferhez (AL).

4. Inkubálja 56 °C-on ( $\pm 1$  °C) 10 percig ( $\pm 1$  perc).
5. A fedelek belső felületén található cseppek eltávolításához maximális sebességgel centrifugálja a líziscsövet (LT)  $\geq 5$  másodpercig.
6. Adjon 200 µl (96–100%-os) etanolt a líziscsőhöz (LT), zárja le a fedelét, majd pulzáló vortexszel keverje  $\geq 15$  másodpercig.
7. A fedelek belső felületén található cseppek eltávolításához maximális sebességgel centrifugálja a líziscsövet (LT)  $\geq 5$  másodpercig.
8. Helyezze be a QIAamp Mini spin oszlopot a vákuumrendszer VacConnector vákuumos csatlakozójába (VC). Gondoskodjon arról, hogy a (vákuumrendszer és a vákuumos elosztócső között található) fő vákuumszelep és a (vákuumos elosztócsövön található) csavaros kupak szelepe zárva legyen. Kapcsolja be a vákuumszivattyút.

---

Dobja el a mosócsövet (WT) (2 ml), amelyben a QIAamp Mini spin oszlop megtalálható volt a buborékcsomagolásban.

A vákuum kizárólag a csatlakozórendszerre hat (ha használnak ilyet), a vákuumos elosztócsövére nem.

9. A perem benedvesítése nélkül óvatosan vigye fel a 7. lépés során keletkezett lizátum teljes mennyiségét a QIAamp Mini spin oszlopra. Ne érjen a pipetta hegyével a QIAamp Mini spin oszlop membránjához.

**Megjegyzés:** Több minta párhuzamos feldolgozása esetén egyszerre csak egy liziscövet (LT) nyisson ki.

10. Nyissa ki a fő vákuumszelepet. Miután a lizátum átszívódott a QIAamp Mini spin oszlopon, zárja le a fő vákuumszelepet, és az elosztócső átszellőztetéséhez nyissa ki a vákuumos elosztócsövön lévő csavaros kupak szelepét. Miután a vákuum megszűnt az elosztócsőben, zárja le a csavaros kupak szelepét.

A fő vákuumszelep elzárását követően a vákuum kizárólag a csatlakozórendszerre hat (ha használnak ilyet), a vákuumos elosztócsőre nem.

**Megjegyzés:** A vákuumos elosztócsövön található csavaros kupak szelepével gyorsan megszüntethető a vákuum.

**Megjegyzés:** Több QIAamp Mini spin oszlop párhuzamos feldolgozása esetén a vákuumos lépés időtartamának csökkentése érdekében javasolt elzárni minden egyes oszlop VacValve vákuumszelepét a lizátum átszívódását követően.

**Megjegyzés:** Ha a lizátum 10 perc elteltével sem szívódik át teljes mértékben a membránon, helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta mosócsőbe (WT), zárja le a fedelét, és centrifugálja 6000 x g (8000 rpm) mellett 3 percig vagy a lizátum teljes átszívódásáig. Helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy másik tiszta mosócsőbe (WT), és folytassa a protokoll 31. oldalán található 10. lépésével.

**Megjegyzés:** Ha a lizátum a centrifugálás során sem szívódik át a membránon, dobja el a mintát, majd a 30. oldalán található 1. lépéstől kezdve ismételve meg az izolálási és tisztítási lépéseket egy új mintával.

11. A perem benedvesítése nélkül vigyen fel 750 µl 1. mosópuffert (AW1) a QIAamp Mini spin oszlopra. Ne érjen a pipetta hegyével a QIAamp Mini spin oszlop membránjához. Hagyja nyitva az oszlop fedelét, és nyissa ki a fő vákuumszelepet. Miután az 1. mosópuffer (AW1) áthatolt a QIAamp Mini spin oszlopon, zárja le a fő vákuumszelepet, és az elosztócső átszellőztetéséhez nyissa ki a csavaros kupak szelepét. Miután a vákuum megszűnt az elosztócsőben, zárja le a csavaros kupak szelepét.
12. A perem benedvesítése nélkül vigyen fel 750 µl 2. mosópuffert (AW2) a QIAamp Mini spin oszlopra. Ne érjen a pipetta hegyével a QIAamp Mini spin oszlop membránjához. Hagyja nyitva az oszlop fedelét, és nyissa ki a fő vákuumszelepet. Miután a 2. mosópuffer (AW2) áthatolt a QIAamp Mini spin oszlopon, zárja le a fő vákuumszelepet, és az elosztócső átszellőztetéséhez nyissa ki a csavaros kupak szelepét. Miután a vákuum megszűnt az elosztócsőben, zárja le a csavaros kupak szelepét.
13. Zárja le a QIAamp Mini spin oszlop fedelét, távolítsa el a vákuumrendszerből, majd dobja el a VacConnector vákuumos csatlakozót (VC). Helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta mosócsőbe (WT), és a membrán teljes megszáritásához maximális sebességgel (körülbelül 20 000 x g vagy 14 000 rpm) centrifugálja 3 percig.

**Megjegyzés:** A szárazra centrifugálás lépésének elmulasztása a további assay-k gátlásához vezethet.

14. Helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta elúciós csőbe (ET), és dobja el a filtrátumot tartalmazó mosócsövet (WT). Óvatosan nyissa fel a QIAamp Mini spin oszlop fedelét, és vigyen fel 50–200 µl eluáló puffert (AE) a membrán közepére. Zárja le a fedelet, majd szobahőmérsékleten inkubálja 1 percig. A DNS eluálásához centrifugálja 1 percig 6000 x g (8000 rpm) mellett.

**Megjegyzés:** A protokoll befejezését követően végezze el a vákuumrendszerre vonatkozó karbantartási eljárást (további részletek a vákuumrendszerhez mellékelt kézikönyvben található).

## Protokoll: Genomiális DNS vérmintákból történő izolálása és tisztítása mikrocentrifuga vagy QIAcube / QIAcube Connect MDx készülék segítségével

Genomiális DNS 200 µl, EDTA-val vagy citráttal kezelt teljes vérből történő izolálásához és tisztításához mikrocentrifuga, vagy automatizált izolálásához és tisztításához QIAcube vagy QIAcube Connect MDx készülék használatával.

Az eljárás megkezdése előtt figyelembe veendő fontos szempontok

- Az alábbi eljárás egyetlen vérmintára vonatkozó utasításokat tartalmaz. Ugyanakkor több minta párhuzamos feldolgozása is elvégezhető; ezen minták maximális száma az alkalmazott mikrocentrifuga kapacitásától függ.
- 2–10 vagy 12 minta automatizált feldolgozása végezhető a QIAcube vagy a QIAcube Connect MDx készüléken.
- Az automatizáláshoz kövesse a protokollismertető lapokon (QIAcube) olvasható vagy a szoftver képernyőjén megjelenő (QIAcube Connect MDx), valamint a *QIAcube vagy a QIAcube Connect MDx felhasználói kézikönyvében* szereplő utasításokat.

Teendők az eljárás megkezdése előtt

- Hagyja a vérmintákat szoba-hőmérsékletűre melegedni, és gondoskodjon arról, hogy jól össze legyenek keverve.
- Ha precipitátum képződött a lízispufferben (AL), 56 °C-on inkubálva oldja fel.
- Gondoskodjon arról, hogy az 1. mosópuffer (AW1), a 2. mosópuffer (AW2) és a QIAGEN Protease (QP) a következőkben foglalt utasításoknak megfelelően legyen előkészítve: „A reagensek és a pufferek előkészítése”, 20. oldal.
- Hagyja szoba-hőmérsékletűre melegedni az eluáló puffert (AE), amelyet a 15. lépés során kell majd felhasználni.
- A 4. lépésnél leírt művelethez állítson egy fűtőblokkot 56 °C-ra.

- A minőség-ellenőrzési eljárás részeként a QIAGEN a forgalomba hozatal előtt mindegyik kit-tételnél funkcionális vizsgálatokat végez. Emiatt nem szabad a különböző kit-tételekhez tartozó reagenseket összekeverni, vagy a különböző reagenstételekhez tartozó reagenseket kombinálni.

## Eljárás

- A mikrocentrifugával végzett manuális eljáráshoz kövesse az 1–15. lépést.
- Ez az eljárás 3 különböző módon automatizálható:
  - Elúciós térfogat: 100 µl teljes automatizálása 100 µl elúciós térfogat mellett (az 1. lépéstől indulva)
  - Elúciós térfogat: 200 µl teljes automatizálása 200 µl elúciós térfogat mellett (az 1. lépéstől indulva)
  - Manuális lízis: részleges automatizálás a készüléken kívül végrehajtott manuális lízissel (az 5. lépéstől indulva)

1. Pipetázzon 20 µl QIAGEN Protease (QP) enzimet egy líziscsőbe (LT).

**Megjegyzés:** Felhasználás előtt ellenőrizze az előkészített proteáz lejárati dátumát.

2. Mérjen 200 µl vérmintát a líziscsőbe (LT).
3. Adjon 200 µl lízispuffert (AL) a líziscsőhöz (LT), zárja le a fedelét, majd pulzáló vortexszel keverje 15 másodpercig.

A hatékony lízis biztosítása érdekében elengedhetetlen, hogy a minta és a lízispuffer (AL) alaposan elkeveredjen, és homogén oldatot képezzen.

**Megjegyzés:** Mivel a lízispuffer (AL) magas viszkozitású anyag, óvatos pipetázással vagy alkalmas pipetta használatával biztosítsa a megfelelő térfogatú lízispuffer (AL) hozzáadását.

**Megjegyzés:** Ne adjon QIAGEN Protease (QP) enzimet közvetlenül a lízispufferhez (AL).

4. Inkubálja 56 °C-on ( $\pm 1$  °C) 10 percig ( $\pm 1$  perc).
5. A fedelek belső felületén található cseppek eltávolításához maximális sebességgel centrifugálja a líziscövet (LT)  $\geq 5$  másodpercig.

**Megjegyzés:** Ha a manuális lízis (1–5. lépés) a készüléken kívül került végrehajtásra, az alábbi lépések (6–15. lépés) a manuális líziszre vonatkozó protokoll szerint automatizálhatók a QIAcube vagy a QIAcube Connect MDx készüléken.

6. Adjon 200 µl (96–100%-os) etanolt a líziscsőhöz (LT), zárja le a fedelét, majd pulzáló vortexszel keverje  $\geq 15$  másodpercig.
7. A fedelek belső felületén található cseppek eltávolításához maximális sebességgel centrifugálja a líziscsővet (LT)  $\geq 5$  másodpercig.
8. A perem benedvesítése nélkül óvatosan vigye fel a 7. lépés során keletkezett lizátum teljes mennyiségét a QIAamp Mini spin oszlopra. Ne érjen a pipetta hegyével a QIAamp Mini spin oszlop membránjához.

**Megjegyzés:** Több minta párhuzamos feldolgozása esetén egyszerre csak egy líziscsővet (LT) nyisson ki.

9. Zárja le a QIAamp Mini spin oszlop fedelét, és körülbelül 6000 x g mellett centrifugálja 1 percig. Helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta mosócsőbe (WT), és dobja el a filtrátumot tartalmazó csövet.

**Megjegyzés:** Ha a lizátum 6000 x g (8000 rpm) mellett végzett centrifugálás esetén nem szívódott át teljesen a membránon, maximális sebességgel (legfeljebb 20 800 x g) ismétlje meg a centrifugálást 1 percig.

**Megjegyzés:** Ha a lizátum a centrifugálás során sem szívódik át a membránon, dobja el a mintát, majd a 30. oldalon található 1. lépéstől kezdve ismétlje meg az izolálási és tisztítási lépéseket egy új mintával.

10. Óvatosan nyissa fel a QIAamp Mini spin oszlop fedelét, és a perem benedvesítése nélkül vigyen fel 500 µl 1. mosópuffert (AW1). Ne érjen a pipetta hegyével a QIAamp Mini spin oszlop membránjához.
11. Zárja le a QIAamp Mini spin oszlop fedelét, és körülbelül 6000 x g mellett centrifugálja 1 percig. Helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta mosócsőbe (WT), és dobja el a filtrátumot tartalmazó csövet.

- 
12. Óvatosan nyissa fel a QIAamp Mini spin oszlop fedelét, és a perem benedvesítése nélkül vigyen fel 500 µl 2. mosópuffert (AW2). Ne érjen a pipetta hegyével a QIAamp Mini spin oszlop membránjához.
13. Zárja le a QIAamp Mini spin oszlop fedelét, és maximális sebességgel (körülbelül 20 000 x g vagy 14 000 rpm) centrifugálja 1 percig. Helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta mosócsőbe (WT), és dobja el a filtrátumot tartalmazó csövet.
14. A membrán teljes megszártásához maximális sebességgel (körülbelül 20 000 x g vagy 14 000 rpm) centrifugálja 3 percig.
- Megjegyzés:** A szárazra centrifugálás lépésének elmulasztása a további assay-k gátlásához vezethet.
15. Helyezze a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta elúciós csőbe (ET), és dobja el a filtrátumot tartalmazó mosócsövet (WT). Óvatosan nyissa fel a QIAamp Mini spin oszlop fedelét, és vigyen fel 50–200 µl eluáló puffert (AE) a membrán közepére. Zárja le a fedelet, majd szobahőmérsékleten inkubálja 1 percig. A DNS eluálásához centrifugálja 1 percig körülbelül 6000 x g (8000 rpm) mellett.

**Fontos megjegyzés:** A teljes eljárás automatizálása esetén a futtatás befejezését követően azonnal távolítsa el az eluátumokat a készülékből, majd tárolja őket megfelelően.



---

# Minőség-ellenőrzés

A QIAGEN ISO-minősített minőségirányítási rendszerének megfelelően minden QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit gyártási tétel esetében ellenőrizzük az előre meghatározott specifikációknak való megfelelést, ezzel biztosítva az állandó termékminőséget.

## Korlátozások

A rendszer teljesítménye genomiális DNS teljes vérből történő izolálása során került meghatározásra.

A felhasználó felelőssége, hogy validálja a rendszer teljesítményét az adott laboratóriumban alkalmazott bármely olyan eljárásra, amely nem része a QIAGEN teljesítményértékelő vizsgálatoknak.

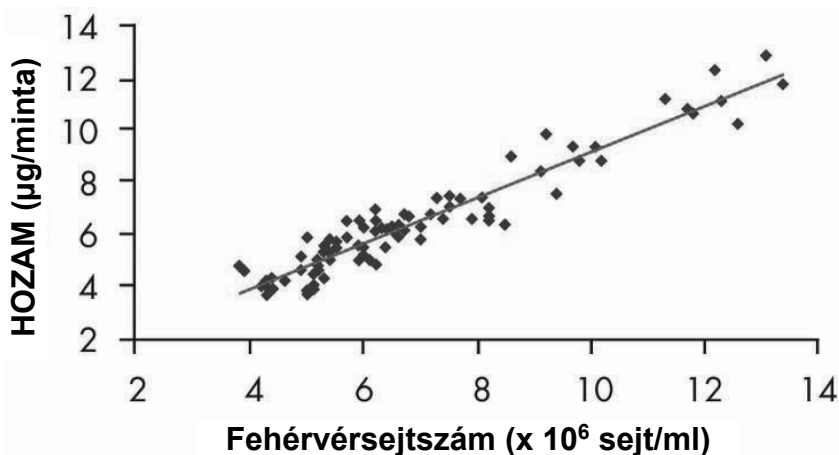
A diagnosztikai eredményeket negatívan befolyásoló hatások kockázatának minimalizálása érdekében a további alkalmazásokhoz megfelelő kontrollokat kell használni. A további validáláshoz az International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH – Műszaki Követelmények Nemzetközi Harmonizációs Konferenciája) által kidolgozott, ICH Q2 (R1) jelű, Validation of Analytical Procedures: Text And Methodology (Analitikai eljárások validálása: szöveg és módszertan) című dokumentumban szereplő irányelveket javasoljuk alkalmazni.

A kapott diagnosztikai eredményeket mindig az egyéb klinikai vagy laboratóriumi leletekkel való összefüggésben kell értelmezni.

# Teljesítményjellemzők

## A tisztított DNS hozama

A DNS-hozam lineáris tartománya milliliterenként  $3,8 \times 10^6 - 1,34 \times 10^7$  fehérvérsejtszámmal rendelkező egészséges donoroktól nyert vérmintákon végzett QIAamp DSP DNA Blood Mini vákuumos eljárás során került meghatározásra (lásd 6. ábra).



**6. ábra: A DNS-hozam lineáris tartománya 200 µl elúciós térfogattal végzett QIAamp DSP DNA Blood Mini vákuumos eljárással.** Meghatározták az egészséges donorok fehérvérsejtszámát, ami  $3,8 \times 10^6 - 1,34 \times 10^7$  sejt/ml közé esett. A DNS tisztítása vérmintákból, 200 µl elúciós térfogattal végzett QIAamp DSP DNA Blood Mini vákuumos eljárással történt. Nyolcvanhét (87), három példányban meglévő minta került feldolgozásra.

## A további assay-ken mért teljesítmény

Az eluált genomiális DNS készen áll további assay-k során való felhasználásra, beleértve különböző további in vitro diagnosztikai assay-eket is (2. táblázat – 6. táblázat). Az elúciós térfogat, valamint a PCR során alkalmazott eluátum térfogatának a PCR teljesítményére gyakorolt hatása is meghatározásra került (lásd 7. táblázat).

**2. táblázat: HLA-típezés Dynal® AllSet™ SSP assay-kkel – „kis felbontású” HLA-A, „kis felbontású” HLA-B, „kis felbontású” DR, és „kis felbontású” DQ**

HLA A-lókusz		HLA B-lókusz		HLA DR-lókusz		HLA DQ-lókusz	
Genotípus	Szám	Genotípus	Szám	Genotípus	Szám	Genotípus	Szám
A2/A3	2	B51, B51/B13 vagy B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 vagy DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 vagy 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	Egyéb	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Egyéb	0			DR15	1	Egyéb	0
				DR1/DR7	1		
				Egyéb	0		

A teljes vérminták gyűjtése független donoroktól történt, a genomiális DNS tisztítása 200 µl teljes vérmintából, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit segítségével történt. A Dynal AllSet™ SSP assay-k felhasználásával (Thermo Fisher Scientific vagy leányvállalatai) a megadott számú egynél volt azonosítható a jelzett lókuszekhez tartozó allél. Szám: az egyének száma.

**3. táblázat: A Factor V Leiden (FV) genotípezése LightCycler® Factor V Leiden mutációkimutatói készlet segítségével**

Genotípus	Szám
Vad típus	17
FV G16191 A heterozigóta	13
FV G16191 A homozigóta	0

A teljes vérminták gyűjtése 30 független donortól történt, a genomiális DNS tisztítása 200 µl teljes vérmintából, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit segítségével történt. Az FV G16191 A-lókuszt alléltípusának meghatározása LightCycler Factor V Leiden mutációkimutatói készlet (Roche csoport) felhasználásával történt.

**4. táblázat: A Factor V Leiden (FV) genotipizálása végpont PCR és Pyrosequencing® elemzés segítségével PSQ-96 SNP-Reagent Kit felhasználásával Pyrosequencing PSQ 96MA készüléken**

Genotípus	Szám
Vad típus	17
FV G16191 A heterozigóta	13
FV G16191 A homozigóta	0

A teljes vérminták gyűjtése 30 független donortól történt, a genomiális DNS tisztítása 200 µl teljes vérmintából, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit segítségével történt. Az FV G1691 A-lókuszt alléltípusának meghatározása végpont PCR és Pyrosequencing elemzés segítségével, PSQ-96 SNP Reagent Kit felhasználásával, Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage) készüléken történt.

**5. táblázat: A protrombin (PT) genotipizálása végpont PCR és Pyrosequencing elemzés segítségével PSQ-Q96 SNP Reagent Kit felhasználásával Pyrosequencing PSQ 96MA készüléken**

Genotípus	Szám
Vad típus	30
PT G20210A heterozigóta	0
PT G20210A homozigóta	0

A teljes vérminták gyűjtése 30 független donortól történt, a genomiális DNS tisztítása 200 µl teljes vérmintából, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit segítségével történt. A PT G20210A lókuszt alléltípusának meghatározása végpont PCR és Pyrosequencing elemzés segítségével, PSQ-96 SNP Reagent Kit felhasználásával, Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage) készüléken történt.

**6. táblázat: Az ApoE polimorfizmus T112C és C158T elemzése végpont PCR segítségével, amely során az amplicon szekvenálása BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit felhasználásával, szeparálása ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer készülékkel történt**

Genotípus	Szám
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Egyéb	0

A teljes vérminták gyűjtése 10 független donortól történt, a genomiális DNS tisztítása 200 µl teljes vérmintából, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit segítségével történt. Az APoE polimorfizmus T112C és C158T elemzése végpont PCR segítségével, amely során az amplikon szekvenálása BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit felhasználásával, szeparálása ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific vagy leányvállalatai) készülékekkel történt.

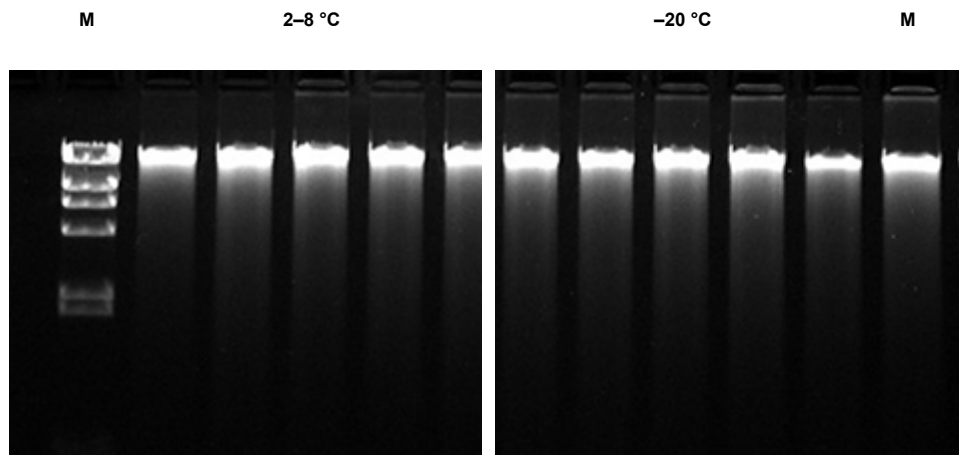
**7. táblázat: Az elúciós térfogat, valamint a PCR során alkalmazott eluátum térfogatának hatása a PCR teljesítményére**

Elúciós térfogat	Eluátum térfogata 50 µl PCR* térfogatra vetítve		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100%	100%	100%
100 µl	100%	100%	97%
200 µl	100%	100%	100%

\* A megadott értékek a PCR találati arányát mutatják 48 minta átlagán.

## Az eluátum stabilitása













A QIAamp DNA Blood Mini Kit és általános laboratóriumi felhasználásra szolgáló, azonos technológiát alkalmazó készlettel létrehozott eluátumok tárolási vizsgálatai során igazolódott, hogy a QIAamp Mini Spin Columns oszlopokról eluált DNS Buffer AE pufferben 8 éven keresztül stabilnak bizonyult mind 2 °C és 8 °C, mind –30 °C és –15 °C között tárolva (7. ábra). Emellett a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit készlettel nyert eluátumok hosszútávú stabilitásának vizsgálata is folyamatban van.

















**7. ábra: A QIAamp Mini spin oszlopok felhasználásával izolált és tisztított DNS hosszútávú stabilitása.** A DNS tisztítása QIAamp DNA Blood Mini Kit felhasználásával, eluálása 200 µl Buffer AE felhasználásával, tárolása pedig 2–8 °C-on vagy –20 °C-on történt 8 éven keresztül. A DNS-minták elemzése etidium-bromiddal festett agaróz gélen történt. M: marker.

# Szimbólumok

A használati útmutatóban, a csomagoláson és a címkéken a következő szimbólumok szerepelhetnek:

Szimbólum	A szimbólum meghatározása
	<N> reakcióhoz elegendő reagenst tartalmaz
	Lejárat dátum
	In vitro diagnosztikai alkalmazásra szolgáló orvostechnikai eszköz
	Az áru beérkezését követően
	Kézbesítéskor nyissa ki; a QIAamp Mini spin oszlopokat 2–8 °C-on tárolja
	Katalógusszám
	Tételszám
	Anyagszám (azaz az összetevők címkéje)
	Összetevők
	Tartalom
	Szám
	Globális kereskedelmi áruazonosító szám
Rn	Az R a Használati útmutató átdolgozását, az n pedig az átdolgozás számát jelöli

Szimbólum	A szimbólum meghatározása
	Hőmérsékleti korlátozás
	Gyártó
	Lásd a használati útmutatót
	Térfogat
	Az etanol palackba töltése után írja rá az aktuális dátumot
	Hozzáadva
	Liofilizált
	Előkészítendő
	Etanol
	Guanidin-hidroklorid
	Szubtilizin
	A következőhöz vezet
	Lásd a használati útmutatót
	Fontos megjegyzés



# Rendelési információk

Termék	Tartalom	Katalógusszám
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	50 DNS-preparáláshoz: QIAamp Mini spin oszlopok, VacConnectors vákuumos csatlakozók, QIAGEN Protease, reagensek, pufferek és mintagyűjtő csövek	61104
<b>Kapcsolódó termékek</b>		
QIAcube Connect MDx*	Készülék 1 éves jótállással az alkatrészekre és a kivitelezésre	9003070
<b>Tartozékok</b>		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	Vákuumos elosztócső 1–24 db spin oszlop feldolgozásához: QIAvac 24 Plus vákuumos elosztócső, luer-dugók, gyorscsatlakozók	19413
Vacuum Pump†	Univerzális vákuumszivattyú	84020
VacConnectors†	500 db egyszer használatos csatlakozó, QIAamp spin oszlopokhoz és luer-csatlakozókhoz	19407
Rotor Adapters	240 minta-előkészítéshez: 240 db egyszer használatos rotoradapter és 240 db elúciós cső (1,5 ml); QIAcube készülékkel való használatra	990394
Rotor Adapter Holder	Tartóelem 12 db egyszer használatos rotoradapterhez; QIAcube készülékkel való használatra	990392

Termék	Tartalom	Katalógusszám
Sample Tubes CB	1000 db kúpos, csavaros tetejű, talp nélküli tesztcső (2 ml), QIAcube és QIAcube Connect MDx készülékkel való használatra	990382
Shaker Rack Plugs	A QIAcube rázógéptartóállvány betöltéséhez	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Reagenspalackok (30 ml) kupakkal; 6-os csomagban; QIAcube készülékkel való használatra	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, tartóállványban; (8 x 128). QIAcube készülékkel való használatra.	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Egyszer használatos, széles belső átmérőjű, szűrővel rendelkező hegyek, tartóállványban; (8 x 128); nem szükséges minden protokollhoz. QIAcube készülékkel való használatra.	990452
Filter-Tips, 200 µl	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, tartóállványban; (8 x 128). QIAcube és QIASymphony SP/AS készülékkel való használatra.	990332

\* A QIAcube Connect MDx nem kapható minden országban. További részletekért lépjen kapcsolatba a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatával.

† Vákuumos protokollokkal való használatra.

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói kézikönyvében található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

# A dokumentum átdolgozási előzményei

<b>Átdolgozás</b>	<b>Leírás</b>
R2, 2021. 01.	<p>Az Automatikus tisztítás QIAcube / QIAcube Connect MDx készülék alkalmazásával, Figyelmeztetések és óvintézkedések és Protokoll: Genomiális DNS vérmintákból történő izolálása és tisztítása mikrocentrifuga vagy QIAcube / QIAcube című szakaszok frissítésre kerültek.</p> <p>Referenciák kerültek hozzáadásra a QIAcube Connect MDx készülékhez és annak tartozékaihoz.</p> <p>A kit tartalma című szakasz CD részéből eltávolításra került a referencia.</p> <p>Szerkesztési és elrendezési módosítások történtek.</p>

---

**Ezt az oldalt szándékosan hagytuk üresen.**

---

**Ezt az oldalt szándékosan hagytuk üresen.**

### Korlátozott licencszerződés a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kíthez

A termék használatával a termék vásárlója vagy felhasználója elfogadja a következő feltételeket:

1. A termékét kizárólag a hozzá tartozó protokollok és a jelen kézikönyv szerint, valamint a panelhez tartozó összetevőkkel együtt szabad használni. A QIAGEN a szellemi tulajdonát képező termékek egyikének esetében sem engedélyezi, hogy a panelhez tartozó összetevőket a termékhez mellékelt protokollokban, a jelen kézikönyvben és a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) webhelyen elérhető további protokollokban leírtak kivételével más, nem a panelhez tartozó összetevőbe beépítsék vagy azokkal együtt használják. Az említett protokollok némelyikét a QIAGEN felhasználói bocsátják más QIAGEN felhasználók rendelkezésére. A QIAGEN nem végezte el ezeknek a protokollokban az alapos vizsgálatát és optimalizálását. A QIAGEN nem vállal jótállást ezekért a protokollokért, és nem garantálja azt sem, hogy azok nem sértek harmadik felek jogait.
2. Az itt leírt licenccen kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a panel és/vagy ennek használata nem sérti harmadik felek jogait.
3. A panel és az összetevőinek licence csak egyszeri használatra jogosít; újrafelhasználása, felújítása vagy újraértékesítése tilos.
4. A QIAGEN az itt leírtakon kívül kifejezetten kizár minden más konkrét vagy vélelmezett jogot.
5. A panel vásárlója és felhasználója elfogadja, hogy semmilyen olyan lépést nem tesz, és másnak sem engedélyezi semmilyen olyan lépés megtételét, amely a fentiekben előírtak megszegéséhez vezet vagy azt elősegíti. A QIAGEN jogosult a jelen korlátozott licencszerződésben foglalt tilalmak bármely bíróságon keresettili érvényesítésére és az azzal kapcsolatban felmerülő összes vizsgálati és perköltség követelésére, beleértve a korlátozott licencre vonatkozó jelen szerződés vagy a panellel és/vagy összetevőivel kapcsolatos bármilyen szellemi tulajdonjog érvényesítése céljából indított peres eljárás ügyvédi költségeit.

A legújabb licenfeltételekről a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) webhelyen tájékozódhat.

Védjegyek: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); BD®, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette®, Greiner Bio-One® (Greiner Bio-One GmbH); Eppendorf®, Thermomixer® (Eppendorf AG); LightCycler® (Roche Group); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.); ABI PRISM®, *AllSet*™, BigDye®, Dyna® (Thermo Fisher Scientific vagy leányvállalatai). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelmen kívül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel.

2021. 01. 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, minden jog fenntartva.

---

Rendelés: [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Műszaki támogatás: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Webhely: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)