

Leden 2021

Návod k použití sady QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit (příručka)



Verze 2



Pro diagnostické použití in vitro



61104



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



1122788CZ



Obsah

Účel použití.....	5
Popis a principy	6
Lýza krevních buněk	6
Vázání genomové DNA k membráně kolonky QIAamp Mini Spin	6
Automatická purifikace na přístroji QIAcube / QIAcube Connect MDx	7
Shrnutí a vysvětlení.....	10
Dodávané materiály	11
Obsah sady	11
Další potřebné materiály, které nejsou součástí soupravy	12
Varování a bezpečnostní opatření	14
Informace o bezpečnosti	14
Skladování reagensů a manipulace s nimi	16
Uchovávání vzorku a manipulace s ním	16
Odstranění reziduálních kontaminantů.....	18
Eluce čisté genomové DNA.....	18
Důležité poznámky	18
Důležité body před zahájením protokolu	18
Příprava reagensů a pufrů.....	19
Manipulace s kolonkami QIAamp Mini Spin	20
Eluce genomové DNA.....	21
Výtěžek a kvalita genomové DNA	21
Nastavení vakuového systému QIAvac 24 Plus.....	22

Postup	24
Protokol: Izolace a purifikace genomové DNA z krevních vzorků pomocí podtlakového systému	24
Protokol: Izolace a purifikace genomové DNA z krevních vzorků pomocí mikrocentrifugy anebo přístroje QIAcube / QIAcube Connect MDx	28
Kontrola kvality	32
Omezení	32
Charakteristika funkčních vlastností	33
Symboly	38
Informace pro objednání	40
Historie revizí dokumentu	42

Účel použití

Sada QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit je systém, který využívá technologii silikátové membrány (technologie QIAamp) k izolaci a purifikaci genomové DNA z biologických vzorků.

Výrobek je určen pro použití profesionálními uživateli, např. techniky a lékaři školenými v technikách molekulární biologie.

Sada QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit je určena pro diagnostické účely in vitro.

Popis a principy

Každý postup QIAamp DSP DNA Blood Mini zahrnuje 4 kroky:

- Lýza buněk v krevním vzorku
- Vázání genomové DNA v buněčném lyzátu k membráně kolonky QIAamp Mini Spin
- Promytí membrány
- Eluce genomové DNA z membrány

Tato příručka obsahuje protokoly pro 2 alternativní postupy QIAamp DSP DNA Blood Mini: postup centrifugace (odstředění), jenž vyžaduje centrifugu, a postup s použitím podtlaku (vakua), jenž vyžaduje centrifugu a podtlakový systém (viz schéma na str. 9). Postup centrifugace (odstředění) lze provádět automaticky na přístrojích QIAcube a QIAcube Connect MDx.

Lýza krevních buněk

Vzorky jsou lyzovány za denaturačních podmínek při zvýšených teplotách. Lýza se provádí za přítomnosti proteázy QIAGEN Protease (QP) a lyzačního pufru (AL).

Vázání genomové DNA k membráně kolonky QIAamp Mini Spin

Pro optimalizaci vázání genomové DNA k membráně kolonky QIAamp Mini Spin se nejprve přidá k lyzátu etanol. Poté se každý lyzátní vzorek nanese na kolonku QIAamp Mini Spin a genomová DNA je adsorbována na silikagelovou membránu při průchodu lyzátu indukovaném podtlakem nebo odstředivou silou.

Automatická purifikace na přístroji QIAcube / QIAcube Connect MDx

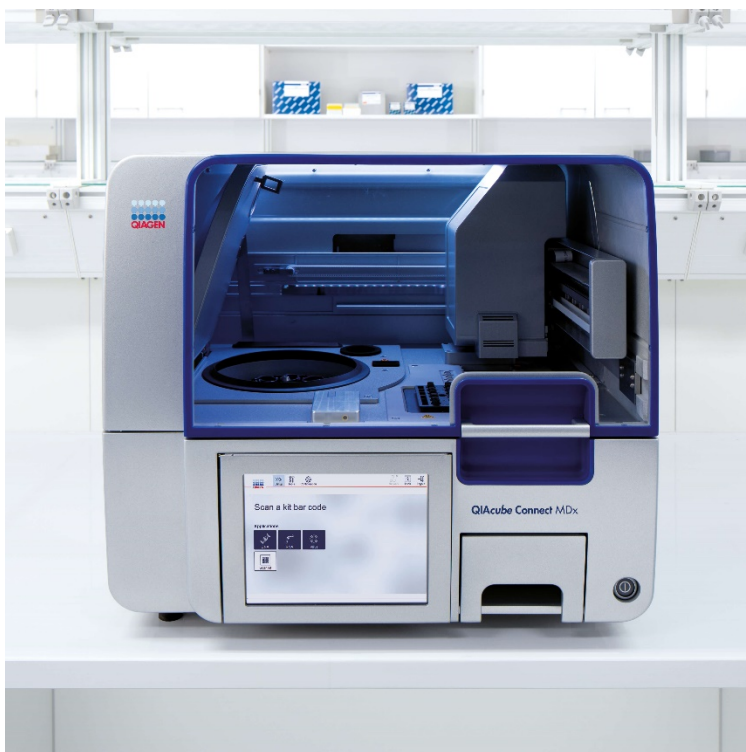
Přístroje QIAcube a QIAcube Connect MDx provádějí automatickou izolaci a purifikaci nukleových kyselin. Přístroj může zpracovat až 12 vzorků v jednom cyklu.

Příprava vzorku pomocí přístroje QIAcube a QIAcube Connect MDx dodržuje stejný postup jako manuální postup (tj. lýza, vázání, promytí a eluce), díky čemuž můžete sadu QIAamp DSP DNA Mini Kit nadále používat k purifikaci vysoce kvalitní DNA.

Při automatizovaném zpracování sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit na přístroji QIAcube nebo QIAcube Connect MDx může přístroj zpracovat méně než 50 vzorků, a to z důvodu mrtvých objemů, odpařování a další spotřeby reagensů automatizovaným pipetováním. Při manuálním použití sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit společnost QIAGEN garantuje pouze 50 stanovení vzorků.

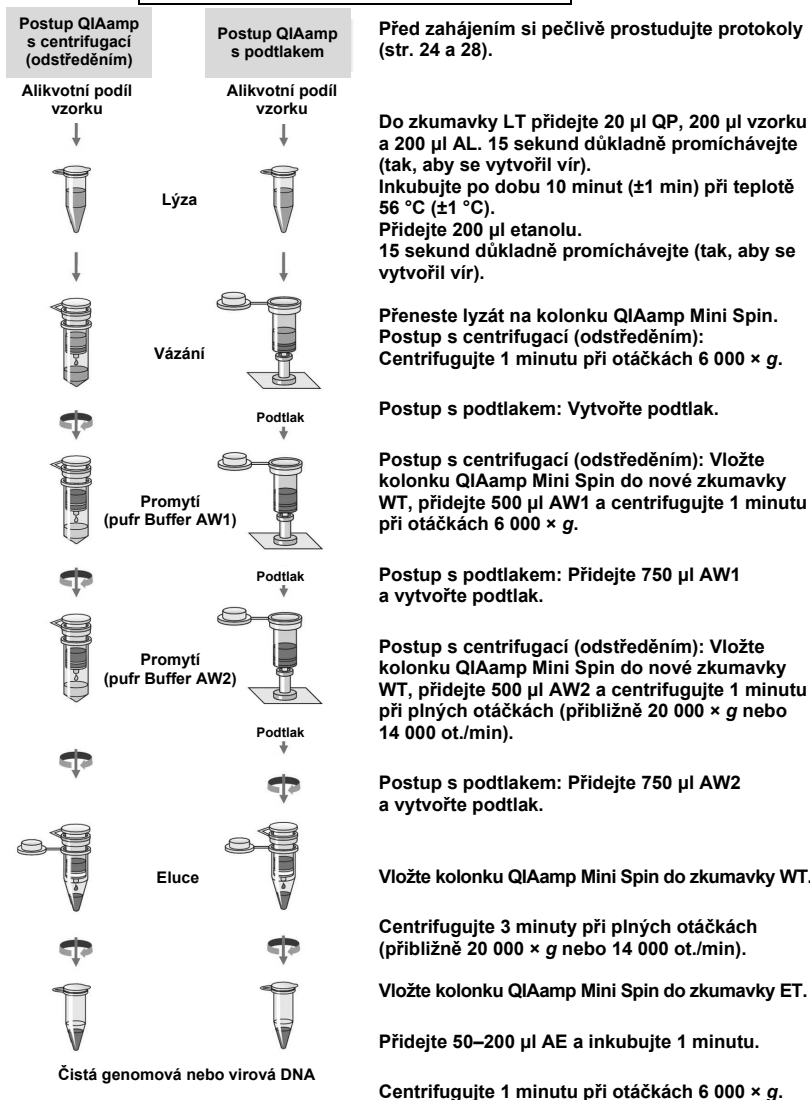


Obrázek 1. QIAcube.



Obrázek 2. QIAcube Connect MDx.

Postupy QIAamp DSP DNA Blood Mini s centrifugací a s podtlakem:



Shrnutí a vysvětlení

Sada QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit využívá zavedenou technologii k rychlé a jednoduché izolaci a purifikaci genomové DNA ze vzorku plné krve o objemu 200 µl.



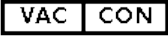









Postup QIAamp DSP DNA Blood Mini, který je určen pro simultánní zpracování několika krevních vzorků, umožňuje získat purifikovanou DNA pro další použití. Postupy jsou vhodné k použití s čerstvou nebo zmrazenou plnou krví a s krví ošetřenou citrátem nebo EDTA.

Jednoduché postupy QIAamp DSP s centrifugací i vakuem jsou vhodné pro simultánní zpracování několika vzorků. Některé centrifugační postupy QIAamp lze plně automatizovat na přístroji QIAcube nebo QIAcube Connect MDx za účelem zvýšené standardizace a snazšího použití (viz str. 7).

Předchozí separace leukocytů není nutná. Postup nevyžaduje fenol/chloroformovou extrakci ani precipitaci alkoholem. Postup vyžaduje pouze minimální interakci ze strany uživatele, tak umožňuje bezpečnou manipulaci s potenciálně infekčními vzorky. Postupy jsou navrženy tak, aby byla minimalizována zkřížená kontaminace vzorků. Purifikovanou DNA lze použít při PCR nebo v jiných aplikacích, případně ji lze uchovávat při teplotách -25 °C až -15 °C pro pozdější použití.

Dodávané materiály

Obsah sady

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
Katalogové č.			61104
Počet prep.			50*
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (WT) (Kolonky QIAamp Mini Spin Column s promývacími zkumavkami) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Eluční zkumavky) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (Lyzační zkumavky) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Promývací zkumavky) (2 ml)		3 × 50
AL	Lysis Buffer (Lyzační pufr) [†]		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Promývací pufr 1) [†] (koncentrát)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Promývací pufr 2) [‡] (koncentrát)		13 ml
AE	Elution Buffer (Eluční pufr) [†]		25 ml
PS	Protease Solvent [§] (Rozpouštědlo proteázy)		2 ml
QP	QIAGEN Protease [§]		1 lahvička
–	Návod k použití (příručka)		1

* Při automatizovaném zpracování sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit na přístroji QIAcube nebo QIAcube Connect MDx může přístroj zpracovat méně než 50 vzorků, a to z důvodu mrtvých objemů, odpařování a další spotřeby reagensů automatizovaným pipetováním. Při manuálním použití sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit společnost QIAGEN garantuje pouze 50 stanovení vzorků.

[†] Obsahuje guanidinyhydrochlorid. Není kompatibilní s dezinfekčními přípravky obsahujícími bělicí prostředky. Další informace naleznete v části Informace o bezpečnosti na str. 14.

[‡] Obsahuje azid sodný jako konzervační látku.

[§] Resuspendační objem 1,2 ml. Viz část „Příprava reagensů a pufrů“ na stránce 19.

Další potřebné materiály, které nejsou součástí soupravy

Při manipulaci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní pracovní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace si vyhledejte v příslušných bezpečnostních listech (BL) které obdržíte od dodavatele výrobku.

Pro postupy s centrifugací a podtlakem

- Etanol (96–100%)
- Pipety* a pipetovací špičky (pro zamezení zkřížené kontaminace důrazně doporučujeme používat pipetovací špičky s aerosolovými bariérami)
- Jednorázové rukavice
- Topný blok* pro lýzu vzorků při teplotě 56 °C (doporučujeme Eppendorf® Thermomixer® Comfort s termoblokem pro 1,5ml mikrozkušavky†)
- Mikrocentrifuga*
- Odměrný válec (50 ml)
- Třepačka vortex

Pouze pro postup s podtlakem

- Podtlakový systém QIAvac 24 Plus (kat. č. 19413), případně rovnocenný systém
- Připojky VacConnectors (kat. č. 19407)
- Ventily VacValves (kat. č. 19408)
- Připojovací systém QIAvac Connecting System (kat. č. 19419)
- Podtlaková pumpa Vacuum Pump (kat. č. 84020)
- Regulátor podtlaku Vacuum Regulator (kat. č. 19530)

* Pro zajištění správného zpracování vzorků při postupech QIAamp DSP DNA Blood Mini důrazně doporučujeme použití nástrojů (tj. pipet a topných bloků) kalibrovaných podle doporučení výrobce.

† Uvedený výčet dodavatelů není úplný a nezahrnuje řadu důležitých prodejců pomůcek používaných v biologické laboratoři.

Pouze pro automatizovaný postup

- Adaptéry do rotoru Rotor Adapters; kat. č. 990394
- Držák pro adaptéry do rotoru Rotor Adapter Holder; kat. č. 990392
- Zkumavky na vzorky Sample Tubes CB; kat. č. 990382 (vstupní zkumavka na vzorek)
- Zátky stojanu třepačky Shaker Rack Plugs; kat. č. 9017854
- Reagenční lahvičky Reagent Bottles, 30 ml; kat. č. 990393
- Špičky s filtrem Filter Tips, 1 000 µl; kat. č. 990352
- Špičky s filtrem Filter Tips, 200 µl; kat. č. 990332
- Zkumavka s bezpečnostním uzávěrem SafeSeal Tube, 1,5 ml, Sarstedt® (kat. č. 72.706)

Varování a bezpečnostní opatření

Veďte prosím na vědomí, že od vás může být vyžadováno nahlášení závažných událostí, ke kterým došlo v souvislosti se zařízením, a to výrobcí a regulačnímu orgánu, pod nějž uživatel a/nebo pacient spadá.

Informace o bezpečnosti

Při manipulaci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní pracovní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Bližší informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech (BL). Ty jsou k dispozici také online v PDF formátu na stránkách **www.qiagen.com/safety**, kde můžete najít, přečíst a vytisknout bezpečnostní listy všech sad a součástí sad QIAGEN.



UPOZORNĚNÍ: NEPŘIDÁVEJTE roztoky bělicích prostředků nebo kyselin přímo do odpadních materiálů z přípravy vzorků.

Lyzační pufr (AL) a promývací pufr 1 (AW1) obsahují guanidinhydrochlorid, který může v kombinaci s bělicími prostředky vytvářet vysoce reaktivní látky. V případě rozlití tekutin obsahujících tyto pufrы vyčistěte kontaminované místo vhodným laboratorním detergentem a vodou. Pokud rozlitá tekutina obsahuje potenciálně infekční látky, vyčistěte zasaženou oblast nejprve laboratorním detergentem a vodou a poté 1 % (obj.) roztokem chlornanu sodného. Jestliže jsou lahve s pufrem poškozeny nebo prosakují, použijte při likvidaci těchto lahví rukavice a ochranné brýle, abyste zabránili poškození vlastního zdraví nebo zdraví jiných osob.

Společnost QIAGEN netestovala tekutý odpad vzniklý během postupů QIAamp DSP DNA Blood Mini na přítomnost reziduálních infekčních materiálů. Kontaminace odpadní tekutiny reziduálními infekčními materiály je nepravděpodobná, nelze ji však zcela vyloučit. Tekutý odpad je proto nutné považovat za infekční a je nutné s ním zacházet a likvidovat jej v souladu s místními bezpečnostními předpisy.

Pro komponenty sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit platí následující standardní věty o nebezpečnosti a pokyny pro bezpečné nakládání.

Lyzační pufr (AL) a promývací pufr 1 (AW1)



Obsahuje: guanidinhydrochlorid. Varování! Škodlivý při požití nebo při vdechnutí. Způsobuje podráždění kůže. Způsobuje vážné podráždění očí. Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít.

QIAGEN Protease (QP)



Obsahuje: subtilisin. Nebezpečí! Zdraví škodlivý při požití. Způsobuje podráždění kůže. Způsobuje vážné poškození očí. Při vdechnutí může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu, případně dechové obtíže. Může způsobit podráždění dýchacích cest. Vyvarujte se vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/výparů/aerosolů. Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít. Používejte ochranný respirátor. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně oplachujte vodou po dobu několika minut. Pokud zasažená osoba používá kontaktní čočky, vyjměte je (pokud je to možné). Pokračujte v oplachování. POKUD dojde k zasažení nebo důvodné obavě, že došlo k zasažení: Ihned kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře. Přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte ho v klidu v poloze usnadňující dýchání.



Skladování reagensů a manipulace s nimi

Kolonky QIAamp Mini Spin by se měly po doručení uchovávat při teplotě 2–8 °C a lze je používat až do doby expirace uvedené na krabici sady.

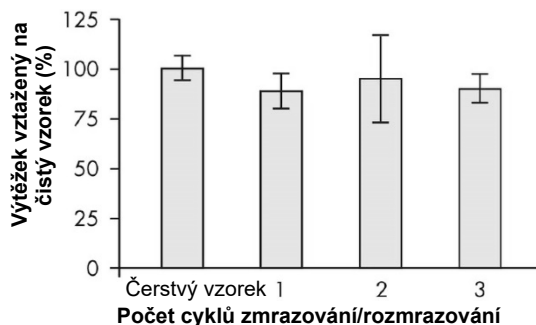
Všechny pufrы se mohou uchovávat při laboratorní teplotě (15–25 °C) až do doby expirace uvedené na krabici sady.

Lyofilizovanou proteázu QIAGEN Protease (QP) lze uchovávat při pokojové teplotě (15–25 °C) až do doby expirace na krabici sady, aniž by to negativně ovlivnilo její účinnost. Rekonstituovaná proteáza QIAGEN Protease je stabilní až 1 rok, pokud se uchovává při teplotě 2–8 °C, ale pouze do doby expirace sady.

Rekonstituovaný promývací pufr 1 (AW1) a rekonstituovaný promývací pufr 2 (AW2) jsou stabilní po dobu 1 roku, pokud jsou uchovávány při pokojové teplotě (15–25 °C), ale pouze do doby expirace sady.

Uchovávání vzorku a manipulace s ním

Kryoprecipitáty vznikající při rozmrazování zmrazených vzorků mohou ucpat membránu kolonky QIAamp Mini Spin. Pokud jsou patrné kryoprecipitáty, dbejte na to, aby nedošlo k jejich nasátí při nasávání vzorku. Byl prokázán vliv zmrazování a rozmrazování krevních vzorků na purifikaci DNA pomocí sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (viz obr. 3).



Obrázek 3. Vliv zmrazování a rozmrazování krevních vzorků. Krev ošetřená EDTA byla zamrzána a rozmrzána celkem 3krát, poté byla použita k purifikaci DNA pomocí sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Vypočítané výtěžky DNA jsou vztaženy na výtěžek z čerstvého vzorku (100 %). Každý sloupec grafu představuje výsledky ze 32 opakování (průměr ± směrodatná odchylka).

Množství DNA purifikované postupy QIAamp DSP DNA Blood Mini závisí na obsahu bílých krvinek v jednotlivých krevních vzorcích. Pomocí postupu s centrifugací nebo podtlakem se provádí purifikace genomové DNA ze vzorků krve o objemu 200 µl získaných od zdravých dárců. K odběru vzorků krve pro postupy QIAamp DSP DNA Blood Mini (Tabulka 1) je možné použít různé odběrové zkumavky a antikoagulační přípravky.

Tabulka 1. Průměrné relativní výtěžky DNA z krevních vzorků odebraných pomocí různých odběrových zkumavek a antikoagulačních přípravků

Odběrová zkumavka	Výrobce	Kat. č.	Nominální objem	Průměrný výtěžek*
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

Genomová DNA byla purifikována z krevních vzorků o objemu 200 µl získaných od zdravých dárců (4,0 až 9,0 × 10⁶ buněk/ml).

* Pro každou odběrovou zkumavku byl stanoven průměrný výtěžek z 11 vzorků měřených ve třech opakováních.

Odstranění reziduálních kontaminantů

Zatímco genomová DNA zůstává vázána na membránu kolonky QIAamp Mini Spin Column, kontaminanty se účinně vymývají nejprve promývacím pufrem 1 (AW1) a poté promývacím pufrem 2 (AW2).

Eluce čisté genomové DNA

Genomová DNA je eluována z membrány kolonky QIAamp Mini Spin Column pomocí 50–200 µl elučního pufru (AE). Eluovaná DNA je připravena k použití v různých následných analýzách, včetně řady následných analýz pro diagnostické účely in vitro.

Důležité poznámky

Důležité body před zahájením protokolu

- Po obdržení sady zkontrolujte, zda nejsou její komponenty poškozeny. V případě poškození blistrových obalů nebo láhví s pufrem kontaktujte oddělení technických služeb QIAGEN nebo místního distributora. V případě rozlité tekutiny postupujte podle pokynů uvedených v části „Informace o bezpečnosti“ (str. 14). Nepoužívejte poškozené komponenty sady, protože použití poškozených komponent by mohlo negativně ovlivnit účinnost sady.
- Před každým přenosem kapalných materiálů vždy vyměňte pipetovací špičky. Pro minimalizaci zkřížené kontaminace doporučujeme používat pipetovací špičky s aerosolovou bariérou.
- Všechny kroky centrifugace se provádějí při pokojové teplotě (15–25 °C).
- Používejte vždy rukavice na jedno použití a pravidelně kontrolujte, zda nedošlo k jejich kontaminaci testovaným vzorkem. Pokud dojde ke kontaminaci rukavic, vyhoďte rukavice do odpadu.
- Pro minimalizaci zkřížené kontaminace neotevírejte více zkumavek současně.
- Při práci se sadou nepoužívejte komponenty jiných sad, pokud nemají stejné číslo šarže.

- Zamezte mikrobiální kontaminaci reagensů sady.
- Pro zajištění ochrany před potenciálně infekčními materiály doporučujeme pracovat za podmínek laminárního proudění až do lýzy vzorků.
- Tuto sadu smí používat pouze personál školený v laboratorních metodách in vitro.

Příprava reagensů a pufrů

- Příprava proteázy QIAGEN Protease

Do lahvičky s lyofilizovanou proteázou QIAGEN Protease (QP) přidejte 1,2 ml proteázového rozpouštědla (PS) a opatrně promíchejte. Aby obsah nepěnil, míchání proveďte několikanásobným obrácením lahvičky. Ujistěte se, že je proteáza QIAGEN Protease (QP) zcela rozpuštěná.

Důležité: Nepřidávejte proteázu QIAGEN Protease (QP) přímo do lyzačního pufru (AL).

- Příprava promývacího pufru 1

Pomocí odměrného válce přidejte 25 ml etanolu (96–100%) do lahve obsahující 19 ml koncentráту promývacího pufru 1 (AW1). Rekonstituovaný promývací pufr 1 (AW1) uchovávejte při laboratorní teplotě (15–25 °C).

Důležité: Před zahájením postupu vždy promíchejte rekonstituovaný promývací pufr 1 (AW1) několikanásobným převrácením lahve.

- Příprava promývacího pufru 2

Pomocí odměrného válce přidejte 30 ml etanolu (96–100%) do lahve obsahující 13 ml koncentráту promývacího pufru 2 (AW2). Rekonstituovaný promývací pufr 2 (AW2) uchovávejte při laboratorní teplotě (15–25 °C).

Důležité: Před zahájením postupu vždy promíchejte rekonstituovaný promývací pufr 2 (AW2) několikanásobným obrácením lahve.

- Příprava elučňího pufru

Se sadou je dodávána jedna lahev elučňího pufru (AE). Protože je nutné zamezit kontaminaci elučňího pufru (AE), důrazně doporučujeme používat k pipetování elučňího pufru (AE) z lahve pipetovací špičky s aerosolovou bariérou a okamžitě po odpipetování pufru vrátit zpět uzávěr na lahev.

Důležité: Elučňí pufr (AE) obsahuje jako konzervační látku azid sodný, který vykazuje absorbanci při 260 nm. Při kvantifikaci DNA v eluátu měřením absorbance při 260 nm, při stanovení čistoty DNA v eluátu měřením absorbance při 260 nm a 280 nm anebo při skenování absorbance v rozmezí vlnových délek 220 nm až 350 nm proto vždy dbejte na to, aby slepé stanovení (blank) obsahovalo stejnou koncentraci azidu sodného jako eluát. Například při přípravě eluátu pro měření absorbance ředěním 50 µl eluátu ve 100 µl vody je nutné připravit slepé stanovení (blank) ředěním 50 µl elučňího pufru (AE) ve 100 µl vody. Pro ředění používejte čerstvou destilovanou vodu.

Manipulace s kolonkami QIAamp Mini Spin

Vzhledem k senzitivě technik amplifikace nukleových kyselin je třeba při manipulaci s kolonkami QIAamp Mini Spin dodržovat následující preventivní opatření, aby nedošlo ke zkřížené kontaminaci během příprav vzorků:

- Vzorek nebo roztok vkládejte do kolonky QIAamp Mini Spin opatrně. Odpipetujte vzorek do kolonky QIAamp Mini Spin, aniž byste navlhčili okraj kolonky.
- Před každým přenosem kapalných materiálů vždy vyměňte pipetovací špičky. Doporučujeme používat pipetovací špičky s aerosolovou bariérou.
- Nedotýkejte se pipetovací špičkou membrány kolonky QIAamp Mini Spin.
- Po všech krocích protřepávání na pulzní třepače mikrocentrifugační zkumavky krátce odstředte, aby se odstranily kapky z vnitřní strany uzávěrů.
- Kolonky QIAamp Mini Spin otevírejte jednu podruhé a dbejte na to, aby nevznikaly aerosoly.
- Během celého procesu používejte rukavice. Pokud se dotknete rukavicemi vzorku, rukavice okamžitě vyměňte.

Eluce genomové DNA

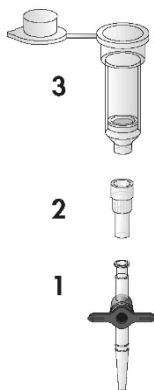
Objem DNA eluované z kolonky QIAamp Mini Spin může být až o 20 µl nižší než objem elučního pufru (AE) naneseného na kolonku. Objem získaného eluátu závisí na povaze vzorku. Eluční pufr (AE) je nutné před aplikací na kolonku vytemperovat na pokojovou teplotu (15–25 °C). Eluovaná DNA se odebírá do elučních zkumavek (ET). V případě skladování DNA po dobu do 4 týdnů doporučujeme uchovávat při teplotě 2–8 °C. Pro dlouhodobé skladování doporučujeme uchovávat při teplotě -30 °C až -15 °C.

Výtěžek a kvalita genomové DNA

Výtěžkem a kvalitou je izolovaná genomová DNA vhodná pro všechny typy následných detekčních metod v molekulární diagnostice. Diagnostické analýzy musejí být prováděny podle pokynů výrobce.

Nastavení vakuového systému QIAvac 24 Plus

Dbejte na správné nastavení kolonky QIAamp Mini Spin, přípojky podtlaku VacConnector (VC) a ventilu VacValve (viz obr. 4).



Obrázek 4. Sestavení komponent sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit pro podtlakové zpracování vzorků.

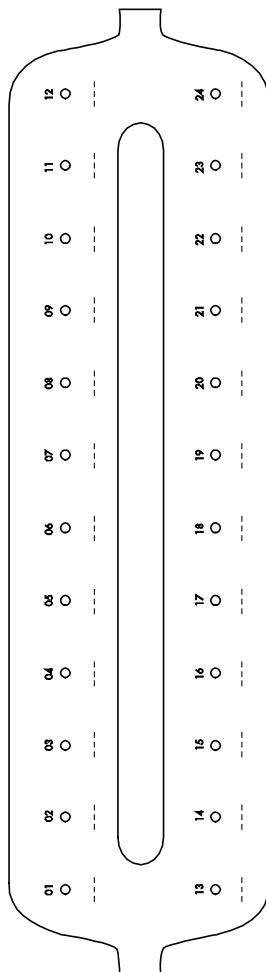
(1) Ventil VacValve (2) Přípojka VacConnector (VC) (3) Kolonka QIAamp Mini Spin

V případě použití postupu s podtlakem s využitím podtlakového systému QIAvac 24 Plus doporučujeme označit lyzační zkumavky (LT), eluční zkumavky (ET) a kolonky QIAamp Mini Spin podle schématu uvedeného na obrázku 5 (viz další strana), aby se zamezilo záměně vzorků. Je možné udělat fotokopii obrázku a označit na něm názvy vzorků. Doporučujeme použít obdobné schéma i v případě použití jiných podtlakových systémů nebo centrifugačního postupu.

Datum: _____

Uživatel: _____

ID cyklu: _____



Obrázek 5. Schéma značení pro lyzační zkumavky (LT), eluční zkumavky (ET) a kolonky QIAamp Mini Spin pro použití s podtlakovým systémem QIAvac 24 Plus.

Postup

Protokol: Izolace a purifikace genomové DNA z krevních vzorků pomocí podtlakového systému

Pro izolaci a purifikaci genomové DNA ze vzorku plné krve o objemu 200 µl ošetřené EDTA nebo citrátem pomocí podtlakového systému, např. QIAvac 24 Plus.

Důležité body před zahájením používání

Níže uvedený postup obsahuje pokyny pro zpracování jednoho krevního vzorku. Pomocí podtlakového systému QIAvac 24 Plus je však možné zpracovat až 24 vzorků současně.

Co je třeba udělat, než začnete

- Vytemperujte krevní vzorky na pokojovou teplotu a důkladně je promíchejte.
- Pokud se v lyzačním pufru (AL) vytvořil precipitát, rozpusťte jej inkubací při teplotě 56 °C.
- Promývací pufrы 1 (AW1) a 2 (AW2) a proteáza QIAGEN Protease (QP) musejí být připraveny podle pokynů uvedených v části „Příprava reagensí a pufrů“ na straně 19.
- Pro použití v kroku 14 vytemperujte eluční pufr (AE) na laboratorní teplotu.
- Pro použití v kroku 4 nastavte topný blok na teplotu 56 °C.
- Pro zamezení zkřížené kontaminace vložte přípojku podtlaku VacConnector (VC) do každého luer adaptéru podtlakového systému.
- Postupy kontroly kvality ve společnosti QIAGEN popisují funkční testování sady před vydáním pro každou jednotlivou šarži sady. Nemíchejte proto reagentie z různých šarží sad ani nekombinujte jednotlivé reagentie z různých šarží reagentií.
- Zkontrolujte, zda je nádoba na odpadní materiály podtlakového systému prázdná a zda jsou všechny spoje řádně propojeny.
- Podrobné informace o provozu vakuového systému, zejména informace o údržbě, jsou uvedeny v příručce přiložené k tomuto systému.

Postup

1. Do lyzační zkumavky (LT) napipetujte 20 µl proteázy QIAGEN Protease (QP).

Poznámka: Před použitím zkontrolujte datum expirace rekonstituované proteázy.

2. Do lyzační zkumavky (LT) přidejte 200 µl vzorku krve.
3. Do lyzační zkumavky (LT) přidejte 200 µl lyzačního pufru (AL), uzavřete víčko a míchejte po dobu 15 s na pulzní třepačce (vortexu).

Pro zajištění efektivní lýzy je zásadně důležité, abyste důkladně promíchali vzorek a lyzační pufr (AL), čímž se získá homogenní roztok.

Poznámka: Vzhledem k vysoké viskozitě lyzačního pufru (AL) dbejte na přidání správného objemu lyzačního pufru (AL), a to pečlivým odpipetováním nebo použitím vhodné pipety.

Poznámka: Nepřidávejte proteázu QIAGEN Protease (QP) přímo do lyzačního pufru (AL).

4. Inkubujte po dobu 10 minut (± 1 min.) při teplotě 56 °C (± 1 °C).
5. Centrifugujte lyzační zkumavku (LT) po dobu ≥ 5 s při plných otáčkách; tímto krokem se odstraní kapky z vnitřní strany uzávěru.
6. Přidejte 200 µl ethanolu (96–100%) do lyzační zkumavky (LT), uzavřete víčko a promíchejte důkladně po dobu ≥ 15 s na pulzní třepačce (vortexu).
7. Centrifugujte lyzační zkumavku (LT) po dobu ≥ 5 s při plných otáčkách; tímto krokem se odstraní kapky z vnitřní strany uzávěru.
8. Kolonku QIAamp Mini Spin vložte do přípojky podtlaku VacConnector (VC) podtlakového systému. Ujistěte se, že jsou hlavní ventil podtlaku (mezi podtlakovým systémem a vedením) a ventil se šroubovým uzávěrem (na podtlakovém vedení) uzavřené. Zapněte podtlakovou pumpu.

Promývací zkumavku (WT) (2 ml), ve které je umístěna kolonka QIAamp Mini Spin v blistru, vyhodte do odpadu.

Podtlak se aplikuje pouze u spojovacího systému (je-li použit), nikoli u podtlakového vedení.

9. Opatrně naneste celý lyzát z kroku 7 na kolonku QIAamp Mini Spin, aniž byste navlhčili její okraj. Nedotýkejte se pipetovací špičkou membrány kolonky QIAamp Mini Spin.

Poznámka: V případě souběžného zpracování několika vzorků mějte vždy otevřenou pouze jednu lyzační zkumavku (LT).

10. Otevřete hlavní podtlakový ventil. Po průchodu lyzátu přes kolonku QIAamp Mini Spin zavřete hlavní podtlakový ventil a otevřete ventil se šroubovým uzávěrem na podtlakovém vedení, aby došlo k odvětrání vedení. Poté, co se podtlak z vedení uvolní, ventil se šroubovým uzávěrem zavřete.

Po uzavření hlavního podtlakového ventilu se podtlak aplikuje pouze u spojovacího systému (je-li použit), nikoli u podtlakového vedení.

Poznámka: Ventil se šroubovým uzávěrem podtlakového vedení použijte pro rychlé uvolnění podtlaku.

Poznámka: Při souběžném zpracování několika kolonek QIAamp Mini Spin doporučujeme po průchodu lyzátu uzavřít podtlakový ventil VacValve každé kolonky. Tímto postupem se sníží doba potřebná k uskutečnění tohoto kroku.

Poznámka: Pokud lyzát neprojde zcela membránou do 10 minut, vložte kolonku QIAamp Mini Spin do čisté promývací zkumavky (WT), uzavřete víčko a centrifugujte při otáčkách $6\ 000 \times g$ (8 000 ot./min.) po dobu 3 minut nebo až do úplného průchodu lyzátu. Vložte kolonku QIAamp Mini Spin do další čisté promývací zkumavky (WT) a pokračujte krokem 10 protokolu na str. 30.

Poznámka: Pokud lyzát během centrifugace neprojde zcela membránou, vzorek zlikvidujte a opakujte izolaci a purifikaci s novým materiálem vzorku, a to počínaje krokem 1 na str. 29.

11. Na kolonku QIAamp Mini Spin naneste 750 µl promývacího pufru 1 (AW1), aniž by došlo k navlhčení okraje kolony. Nedotýkejte se pipetovací špičkou membrány kolonky QIAamp Mini Spin. Víčko kolonky nechejte otevřené a otevřete hlavní vakuový ventil. Po průchodu promývacího pufru 1 (AW1) přes kolonku QIAamp Mini Spin zavřete hlavní podtlakový ventil a otevřete ventil se šroubovým uzávěrem na podtlakovém vedení, aby došlo k odvětrání vedení. Poté, co se podtlak z vedení uvolní, ventil se šroubovým uzávěrem zavřete.

12. Na kolonku QIAamp Mini Spin naneste 750 µl promývacího pufru 2 (AW2), aniž by došlo k navlhčení okraje kolony. Nedotýkejte se pipetovací špičkou membrány kolony QIAamp Mini Spin. Víčko kolony nechte otevřené a otevřete hlavní vakuový ventil. Po průchodu promývacího pufru 2 (AW2) přes kolonku QIAamp Mini Spin zavřete hlavní podtlakový ventil a otevřete ventil se šroubovým uzávěrem na podtlakovém vedení, aby došlo k odvětrání vedení. Poté, co se podtlak z vedení uvolní, ventil se šroubovým uzávěrem zavřete.

13. Zavřete víčko kolony QIAamp Mini Spin, odpojte ji od podtlakového systému a vyhodte přípojku podtlaku VacConnector (VC) do odpadu. Vložte kolonku QIAamp Mini Spin do čisté promývací zkumavky (WT) a centrifugujte při plných otáčkách (přibližně 20 000 × g, tj. 14 000 ot./min.) po dobu 3 min. Při centrifugaci dojde k úplnému vysušení membrány.

Poznámka: Vynechání této centrifugace, při níž dochází k vysušení kolony, může vést k inhibici následné analýzy.

14. Vložte kolonku QIAamp Mini Spin do čisté eluční zkumavky (ET) a vyhodte promývací zkumavku (WT) obsahující filtrát do odpadu. Opatrně otevřete víčko kolony QIAamp Mini Spin a naneste 50 až 200 µl elučního pufru (AE) na střed membrány. Zavřete víčko a inkubujte při laboratorní teplotě po dobu 1 minuty. Centrifugujte při otáčkách 6 000 × g (8 000 ot./min.) po dobu 1 minuty; centrifugací dojde k eluci DNA.

Poznámka: Po provedení tohoto protokolu proveďte údržbu podtlakového systému (bližší informace k tomuto naleznete v příručce dodávané s podtlakovým systémem).

Protokol: Izolace a purifikace genomové DNA z krevních vzorků pomocí mikrocentrifugy anebo přístroje QIAcube / QIAcube Connect MDx

Pro izolaci a purifikaci genomové DNA ze vzorku plné krve o objemu 200 µl ošetřené EDTA nebo citrátem pomocí mikrocentrifugy, případně automaticky na přístroji QIAcube nebo QIAcube Connect MDx.

Důležité body před zahájením používání

- Níže uvedený postup obsahuje pokyny pro zpracování jednoho krevního vzorku. Souběžně je však možné zpracovat několik krevních vzorků; jejich počet závisí na kapacitě použité mikrocentrifugy.
- Na přístroji QIAcube nebo QIAcube Connect MDx lze provádět automatizované zpracování 2–10 nebo 12 vzorků.
- Pro automatizaci postupujte podle pokynů uvedených v protokolových listech (QIAcube) nebo na obrazovce softwaru (QIAcube Connect MDx) a podle *uživatelské příručky pro přístroj QIAcube nebo QIAcube Connect MDx*.

Co je třeba udělat, než začnete

- Vytemperujte krevní vzorky na pokojovou teplotu a důkladně je promíchejte.
- Pokud se v lyzačním pufru (AL) vytvořil precipitát, rozpustěte jej inkubací při teplotě 56 °C.
- Promývací pufrы 1 (AW1) a 2 (AW2) a proteáza QIAGEN Protease (QP) musejí být připraveny podle pokynů uvedených v části „Příprava reagensií a pufrů“ na straně 19.
- Pro použití v kroku 15 vytemperujte eluční pufr (AE) na laboratorní teplotu.
- Pro použití v kroku 4 nastavte topný blok na teplotu 56 °C.
- Postupy kontroly kvality ve společnosti QIAGEN popisují funkční testování sady před vydáním pro každou jednotlivou šarži sady. Nemíchejte proto reagentie z různých šarží sad ani nekombinujte jednotlivé reagentie z různých šarží reagentií.

Postup

- U manuálního postupu s mikrocentrifugou postupujte podle kroků 1–15.
 - Tento postup lze automatizovat ve 3 různých verzích:
 - Eluční objem: 100 µl, plná automatizace s elučním objemem 100 µl (počínaje krokem 1)
 - Eluční objem: 200 µl, plná automatizace s elučním objemem 200 µl (počínaje krokem 1)
 - Manuální lýza: částečná automatizace s provedením manuální lýzy mimo přístroj (počínaje po kroku 5)
1. Do lyzační zkumavky (LT) napipetujte 20 µl proteázy QIAGEN Protease (QP).
Poznámka: Před použitím zkontrolujte datum expirace rekonstituované proteázy.
 2. Do lyzační zkumavky (LT) přidejte 200 µl vzorku krve.
 3. Do lyzační zkumavky (LT) přidejte 200 µl lyzačního pufru (AL), uzavřete víčko a míchejte po dobu 15 s na pulzní třepačce (vortexu).
Pro zajištění efektivní lýzy je zásadně důležité, abyste důkladně promíchali vzorek a lyzační pufr (AL), čímž se získá homogenní roztok.
Poznámka: Vzhledem k vysoké viskozitě lyzačního pufru (AL) dbejte na přidání správného objemu lyzačního pufru (AL), a to pečlivým odpipetováním nebo použitím vhodné pipety.
Poznámka: Nepřidávejte proteázu QIAGEN Protease (QP) přímo do lyzačního pufru (AL).
 4. Inkubujte po dobu 10 minut (± 1 min.) při teplotě 56 °C (± 1 °C).
 5. Centrifugujte lyzační zkumavku (LT) po dobu ≥ 5 s při plných otáčkách; tímto krokem se odstraní kapky z vnitřní strany uzávěru.
Poznámka: Byla-li manuální lýza (kroky 1–5) provedena mimo přístroj, lze následující kroky (kroky 6–15) automatizovat na přístroji QIAcube nebo QIAcube Connect MDx pomocí protokolu pro manuální lýzu.
 6. Přidejte 200 µl ethanolu (96–100%) do lyzační zkumavky (LT), uzavřete víčko a promíchejte důkladně po dobu ≥ 15 s na pulzní třepačce (vortexu).
 7. Centrifugujte lyzační zkumavku (LT) po dobu ≥ 5 s při plných otáčkách; tímto krokem se odstraní kapky z vnitřní strany uzávěru.

8. Opatrně naneste celý lyzát z kroku 7 na kolonku QIAamp Mini Spin, aniž byste navlhčili její okraj. Nedotýkejte se pipetovací špičkou membrány kolonky QIAamp Mini Spin.

Poznámka: V případě souběžného zpracování několika vzorků mějte vždy otevřenou pouze jednu lyzační zkumavku (LT).

9. Zavřete víčko kolonky QIAamp Mini Spin a centrifugujte při otáčkách přibližně $6\,000 \times g$ po dobu 1 minuty. Vložte kolonku QIAamp Mini Spin do čisté promývací zkumavky (WT) a vyhodte zkumavku obsahující filtrát do odpadu.

Poznámka: Pokud veškerý lyzát neprojde přes membránu po centrifugaci při $6\,000 \times g$ ($8\,000$ ot./min), centrifugujte znovu při plných otáčkách (přibližně $20\,800 \times g$) po dobu 1 min.

Poznámka: Pokud lyzát během centrifugace neprojde zcela membránou, vzorek zlikvidujte a opakujte izolaci a purifikaci s novým materiálem vzorku, a to počínaje krokem 1 na str. 29.

10. Opatrně otevřete kolonku QIAamp Mini Spin a přidejte $500\ \mu\text{l}$ promývacího pufru 1 (AW1), aniž byste navlhčili její okraj. Nedotýkejte se pipetovací špičkou membrány kolonky QIAamp Mini Spin.

11. Zavřete víčko kolonky QIAamp Mini Spin a centrifugujte při otáčkách přibližně $6\,000 \times g$ po dobu 1 minuty. Vložte kolonku QIAamp Mini Spin do čisté promývací zkumavky (WT) a vyhodte zkumavku obsahující filtrát do odpadu.

12. Opatrně otevřete kolonku QIAamp Mini Spin a přidejte $500\ \mu\text{l}$ promývacího pufru 2 (AW2), aniž byste navlhčili její okraj. Nedotýkejte se pipetovací špičkou membrány kolonky QIAamp Mini Spin.

13. Zavřete víčko kolonky QIAamp Mini Spin a centrifugujte při plných otáčkách (přibližně $20\,000 \times g$, tj. $14\,000$ ot./min.) po dobu 1 minuty. Vložte kolonku QIAamp Mini Spin do čisté promývací zkumavky (WT) a vyhodte zkumavku obsahující filtrát do odpadu.

14. Centrifugujte při plných otáčkách (přibližně $20\,000 \times g$, tj. $14\,000$ ot./min.) po dobu 3 minut; během centrifugace dojde k úplnému vysušení membrány.

Poznámka: Vynechání této centrifugace, při níž dochází k vysušení kolonky, může vést k inhibici následné analýzy.

15. Vložte kolonku QIAamp Mini Spin do čisté eluční zkumavky (ET) a vyhodte promývací zkumavku (WT) obsahující filtrát do odpadu. Opatrně otevřete víčko kolonky QIAamp Mini Spin a naneste 50 až 200 µl elučního pufru (AE) na střed membrány. Zavřete víčko a inkubujte při laboratorní teplotě po dobu 1 minuty. Centrifugujte při otáčkách přibližně $6\ 000 \times g$ (8 000 ot./min.) po dobu 1 minuty; centrifugací dojde k eluci DNA.

Důležitá poznámka: V případě všech automatizovaných postupů odstraňte eluáty z přístroje ihned po dokončení cyklu a řádně je uložte.

Kontrola kvality

V souladu se systémem řízení kvality společnosti QIAGEN, certifikovaným podle norem ISO, je každá šarže sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit podrobena testům předem definovaných parametrů, které zajišťují odpovídající kvalitu výrobků.

Omezení

Účinnost systému byla stanovena použitím plné krve pro izolaci genomové DNA.

Každý uživatel je zodpovědný za validaci funkce systémů u všech postupů používaných v dané laboratoři, které nejsou zahrnuty ve studiích funkčnosti výrobků společnosti QIAGEN.

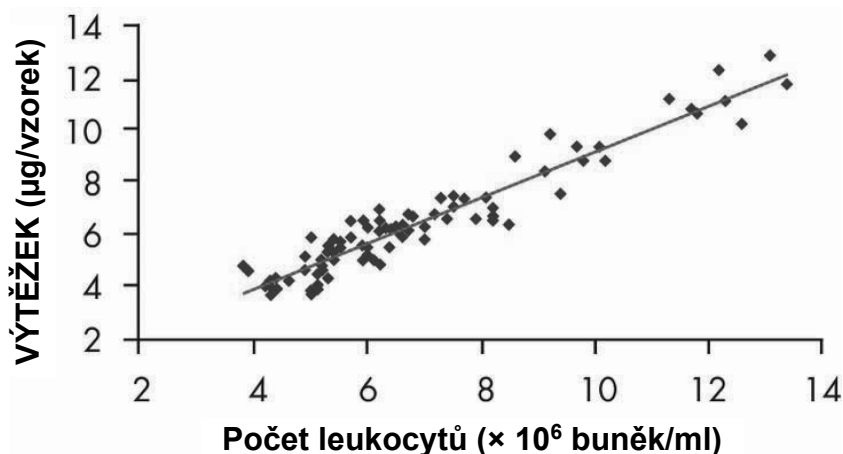
Pro minimalizaci rizika negativního dopadu na diagnostické výsledky je zapotřebí používat pro aplikace v následných stupních analýzy odpovídající kontroly. Pro další validaci se doporučují pokyny Mezinárodní konference o harmonizaci technických požadavků (ICH) uvedené v dokumentu ICH Q2(R1) Validace analytických postupů: Text a metodologie.

Jakékoliv získané diagnostické výsledky se musí interpretovat v kontextu ostatních klinických nebo laboratorních nálezů.

Charakteristika funkčních vlastností

Výtěžek purifikované DNA

Lineární rozsah výtěžku DNA získaného pomocí postupu QIAamp DSP DNA Blood Mini s podtlakem z 200 μ l elučního objemu byl stanoven pro krev od zdravých dárců s počtem leukocytů $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ buněk/ml (viz obr. 6).



Obrázek 6. Lineární rozsah výtěžku DNA získaného pomocí postupu QIAamp DSP DNA Blood Mini s podtlakem z 200 μ l elučního objemu. Stanovené počty leukocytů u zdravých dárců se pohybovaly v rozmezí $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ buněk/ml. DNA byla purifikována z krevních vzorků pomocí postupu QIAamp DSP DNA Blood Mini s využitím podtlaku z 200 μ l elučního objemu. Bylo zpracováno osmdesát sedm vzorků, každý ve třech opakováních.

Výkonnost v následných analýzách

Eluovaná genomová DNA je připravena k použití v různých následných analýzách, včetně řady následných analýz pro diagnostické účely in vitro (tabulka 2 až tabulka 6). Byl prokázán vliv elučního objemu a objemu eluátu používaných při PCR na účinnost PCR (viz tabulka 7).

Tabulka 2. Typizace HLA pomocí analýz Dynal® AllSet™ SSP HLA-A „Low Resolution“, HLA-B „Low Resolution“, DR „Low Resolution“ a DQ „Low Resolution“

HLA lokus A		HLA lokus B		HLA lokus DR		HLA lokus DQ	
Genotyp	Č.	Genotyp	Č.	Genotyp	Č.	Genotyp	Č.
A2/A3	2	B51, B51/ B13 nebo B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 nebo DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 nebo 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	Jiné	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Jiné	0			DR15	1	Jiné	0
				DR1/DR7	1		
				Jiné	0		

Od jednotlivých dárců byla odebrána plná krev a z 200 µl plné krve byla purifikována genomová DNA pomocí sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Pomocí analýz Dynal AllSet⁺ SSP (Thermo Fisher Scientific anebo její dceřiné společnosti) byly identifikovány alely a indikovány lokusy u daného počtu jedinců. Č.: počet jedinců.

Tabulka 3. Faktor genotypizace V Leiden (FV) využívající sadu k detekci mutací LightCycler® Factor V Leiden

Genotyp	Počet
Divokého typu	17
FV G16191 A heterozygotní	13
FV G16191 A homozygotní	0

Od 30 jednotlivých dárců byla odebrána plná krev a z 200 µl plné krve byla purifikována genomová DNA pomocí sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Alelický stav u lokusu FV G16191 A byl určen pomocí sady k detekci mutací LightCycler Factor V Leiden (Roche Group).

Tabulka 4. Faktor genotypizace V Leiden (FV) využívající koncový bod PCR a analýzu Pyrosequencing® se sadou PSQ-96 SNP-Reagent Kit na přístroji Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotyp	Počet
Divokého typu	17
FV G16191 A heterozygotní	13
FV G16191 A homozygotní	0

Od 30 jednotlivých dárců byla odebrána plná krev a z 200 µl plné krve byla purifikována genomová DNA pomocí sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Alelický stav u lokusu FV G1691 A byl určen pomocí koncového bodu PCR a analýzy pyrosekvenace se sadou PSQ-96 SNP-Reagent Kit na přístroji Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabulka 5. Protrombinová (PT) genotypizace využívající koncový bod PCR a analýzu Pyrosequencing se sadou PSQ-Q96 SNP Reagent Kit na přístroji Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotyp	Počet
Divokého typu	30
PT G20210A heterozygotní	0
PT G20210A homozygotní	0

Od 30 jednotlivých dárců byla odebrána plná krev a z 200 µl plné krve byla purifikována genomová DNA pomocí sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Alelický stav u lokusu PT G20210A byl určen pomocí koncového bodu PCR a analýzy pyrosekvenace se sadou PSQ-96 SNP Reagent Kit na přístroji Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabulka 6. Analýza ApoE polymorfizmu T112C a C158T pomocí koncového bodu PCR se sekvenováním ampliconu pomocí sady BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit a separace na genetickém analyzátoru ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer

Genotyp	Počet
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Jiné	0

Od 10 jednotlivých dárců byla odebrána plná krev a z 200 µl plné krve byla purifikována genomová DNA pomocí sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Analýza ApoE polymorfismu T112C a C158T byla provedena pomocí koncového bodu PCR se sekvenováním amplikonu pomocí sady BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit a separace na genetickém analyzátoru ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific nebo její dceřině společnosti).

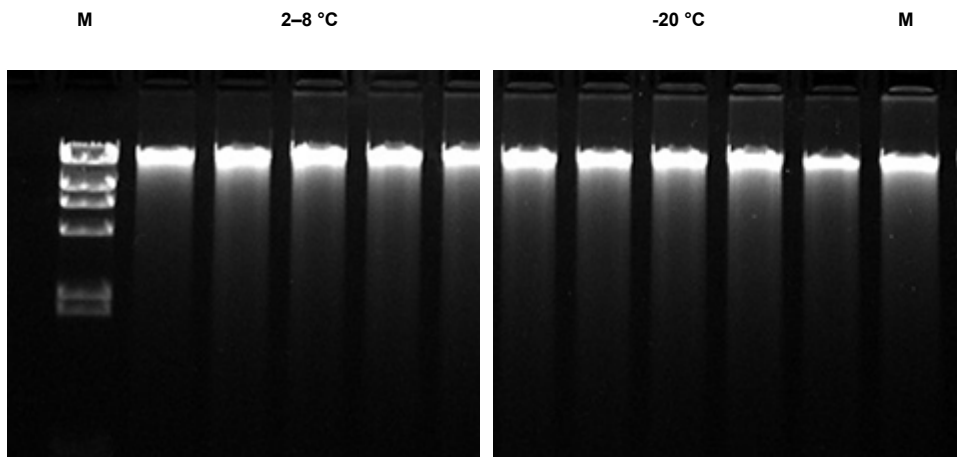
Tabulka 7. Vliv elučního objemu a objemu eluátu používaných při PCR na účinnost PCR

Eluční objem	Objem eluátu pro 50 µl PCR*		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100 %	100 %	100 %
100 µl	100 %	100 %	97 %
200 µl	100 %	100 %	100 %

* Hodnoty ukazují úspěšnost PCR a představují průměr ze 48 vzorků.

Stabilita eluátů














Při testech vlivu skladování na eluáty získané pomocí sady QIAamp DNA Blood Mini Kit, tj. sady pro běžné laboratorní použití využívající identickou technologii, bylo prokázáno, že DNA eluovaná z kolonek QIAamp Mini Spin Column v pufru Buffer AE je stabilní po dobu 8 let, pokud je uchovávána při teplotě buď 2 °C až 8 °C, nebo -30 °C až -15 °C (obrázek 7). Dlouhodobé studie stability eluátů získaných pomocí sady QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit probíhají a dosud nebyly dokončeny.
















Obrázek 7. Dlouhodobá stabilita DNA izolované a purifikované na kolonkách QIAamp Mini Spin. DNA byla purifikována pomocí sady QIAamp DNA Blood Mini Kit, eluována ve 200 μ l pufru Buffer AE a uchovávána buď při teplotě 2–8 °C, nebo při -20 °C po dobu 8 let. Vzorky DNA byly analyzovány na agarózovém gelu po obarvení ethidium bromidem. M: marker.

Symbols

V návodu k použití anebo na obalu a značení se mohou objevit následující symboly:

Symbol	Definice symbolu
	Obsahuje dostatek činidel pro <N> reakcí
	Použijte do
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro
	Při dodání
	Otevřít při převzetí; kolonky QIAamp Mini Spin uchovávejte při teplotě 2–8 °C
	Katalogové číslo
	Číslo šarže
	Číslo materiálu (tj. označení dílu)
	Komponenty
	Obsahuje
	Číslo
	Globální číslo obchodní položky
Rn	R označuje revizi návodu k použití a n je číslo revize
	Teplotní rozmezí

Symbol	Definice symbolu
	Výrobce
	Viz návod k použití
	Objem
	Zapište aktuální datum přidání etanolu do lahvičky
	Přidání
	Lyofilizováno
	Rekonstituujte v
	Etanol
	Guanidinhydrochlorid
	Subtilisin
	Způsobuje
	Viz návod k použití
	Důležitá poznámka

Informace pro objednání

Výrobek	Obsah	Kat. č.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Pro přípravu 50 vzorků DNA: Kolonky QIAamp Mini Spin, přípojky VacConnectors, QIAGEN Protease, reagentie, pufrý a odběrové zkumavky	61104
Související výrobky		
QIAcube Connect MDx*	Přístroj a roční záruka na díly a servis	9003070
Příslušenství		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	Vakuové vedení pro zpracování kolon 1–24 Spin: Podtlakové vedení systému QIAvac 24 Plus, luerové konektory, rychlospojky	19413
Vacuum Pump†	Univerzální podtlaková pumpa	84020
VacConnectors†	500 jednorázových konektorů pro použití s kolonkami QIAamp Spin na luerových konektorech	19407
Rotor Adapters	Pro přípravu 240 vzorků: 240 jednorázových adaptérů do rotoru a 240 elučních zkumavek (1,5 ml); pro použití s přístrojem QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Držák na 12 jednorázových adaptérů do rotoru; pro použití s přístrojem QIAcube	990392

Výrobek	Obsah	Kat. č.
Sample Tubes CB	1 000 kónických zkumavek se šroubovacím uzávěrem bez olemované základny (2 ml) pro použití s přístrojem QIAcube a QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Pro naplnění stojanu třepačky QIAcube	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Reagenční lahve Reagent Bottles (30 ml) s víčky; balíček po 6 kusech; pro použití s přístrojem QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Jednorázové filtrační špičky Disposable Filter-Tips, ve stojanech; (8 × 128). Pro použití s přístrojem QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Jednorázové filtrační špičky Disposable Filter-Tips, široký otvor, umístěné ve stojanech; (8 × 128); není vyžadováno pro všechny protokoly. Pro použití s přístrojem QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Jednorázové filtrační špičky Disposable Filter-Tips, ve stojanech; (8 × 128). Pro použití s přístroji QIAcube a QIASymphony SP/AS	990332

* Přístroj QIAcube Connect MDx není k dispozici ve všech zemích. Pro další podrobnosti kontaktujte oddělení technických služeb společnosti QIAGEN.

† Pro použití s protokoly pro podtlak.

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifické pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro sadu QIAGEN nebo uživatelské příručce. Příručky k soupravám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat od technických služeb společnosti QIAGEN nebo místního distributora.

Historie revizí dokumentu

Revize	Popis
R2, 01/2021	<p>Aktualizovány části Automatická purifikace na přístroji QIAcube / QIAcube Connect MDx, Varování a bezpečnostní opatření a Protokol: Izolace a purifikace genomové DNA z krevních vzorků pomocí mikrocentrifugy anebo přístroje QIAcube / QIAcube.</p> <p>Přidány odkazy na přístroj QIAcube Connect MDx a jeho příslušenství.</p> <p>Odstraněny odkazy na CD v části Obsah sady.</p> <p>Redakční změny a úpravy rozvržení.</p>

Tato stránka je úmyslně ponechána prázdná.

Tato stránka je úmyslně ponechána prázdná.

Omezené licenční ujednání pro sadu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Používáním tohoto výrobku vyjadřuje kterýkoliv kupující nebo uživatel produktu svůj souhlas s následujícími podmínkami:

1. Tento výrobek se může používat výhradně v souladu s protokoly poskytnutými s tímto výrobkem a touto příručkou a pro použití pouze s komponenty dodanými v panelu. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou licenci svých duševních práv k používání nebo začlenění součástí, které jsou obsaženy v tomto panelu, společně s kterýmikoliv součástmi, které nejsou v tomto panelu obsaženy, s výjimkou případů popsanych v této příručce a dalších protokolech dostupných na stránkách www.qiagen.com. Některé z těchto doplňujících protokolů byly poskytnuty uživateli výrobků společnosti QIAGEN pro jiné uživatele výrobků QIAGEN. Tyto protokoly nebyly společností QIAGEN důkladně testovány ani optimalizovány. Společnost QIAGEN nezaručuje ani neposkytuje záruku na to, že neporušují práva třetích stran.
2. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou jinou záruku než výslovně stanovené licence v tom smyslu, že tento panel a/nebo jeho použití nenarušuje práva třetích stran.
3. Tento panel a jeho komponenty jsou licencovány k jednorázovému použití a nesmí se používat opakovaně, přepřelcovávat ani opakovaně prodávat.
4. Společnost QIAGEN specificky odmítá jakékoli další výslovné nebo nepřímé licence s výjimkou těch, které jsou uvedeny výslovně.
5. Kupující a uživatel tohoto panelu souhlasí s tím, že nepodnikne ani nikomu jinému neumožní podniknout žádné kroky, které by mohly vést k jakékoli shora zakázané činnosti nebo ji usnadnit. Společnost QIAGEN může prosazovat základy tohoto ujednání o omezené licenci u kteréhokoliv soudu, a bude vyžadovat kompenzaci za veškeré náklady vynaložené na vyšetřování a soudní výlohy včetně poplatků za právní zástupce v případě jakéhokoliv soudního sporu s cílem prosadit toto ujednání o omezené licenci nebo kteréhokoliv ze svých práv k duševnímu vlastnictví v souvislosti s panelem a/nebo jeho součástmi.

Pro aktualizovanou licenční ustanovení viz www.qiagen.com.

Ochranné známky: 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®, *Al/Set*™, BigDye®, Dynal® (Thermo Fisher Scientific nebo její dceřiné společnosti). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když takto nejsou konkrétně označeny, nesmějí být považovány za nechráněné zákonem.

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

Objednávky www.qiagen.com/shop | Technická podpora support.qiagen.com |
Webová stránka www.qiagen.com