

Tháng 1 năm 2021

# Hướng dẫn Sử dụng QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA Blood Mini Kit (Sổ tay)



Phiên bản 2

**IVD**

Cho mục đích sử dụng chẩn đoán trong ống nghiệm



**REF**

61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden  
Điện thoại: +49-2103-29-0

Bản sửa đổi 2

**MAT**

1122788VN



# Mục lục

Mục đích sử dụng.....	5
Mô tả và Nguyên tắc .....	6
Phân giải tế bào máu .....	6
Liên kết DNA bộ gen với màng cột quay QIAamp Mini .....	6
Lọc tự động trên QIAcube/QIAcube Connect MDx .....	7
Tóm tắt và giải thích.....	10
Các vật liệu được cung cấp.....	11
Thành phần bộ kit .....	11
Các vật liệu yêu cầu nhưng không được cung cấp.....	12
Cảnh báo và Thận trọng.....	14
Thông tin an toàn .....	14
Bảo quản và Xử lý Thuốc thử.....	16
Bảo quản và Xử lý Mẫu.....	16
Loại bỏ các chất nhiễm bẩn tồn dư .....	18
Rửa giải DNA bộ gen tinh khiết.....	18
Lưu ý Quan trọng .....	18
Những điểm quan trọng trước khi bắt đầu giao thức .....	18
Chuẩn bị thuốc thử và chất đệm .....	19
Xử lý các cột quay QIAamp Mini .....	20
Rửa giải DNA bộ gen .....	21
Năng suất và chất lượng của DNA bộ gen.....	21
Thiết lập hệ thống chân không QIAvac 24 Plus .....	21

---

Quy trình.....	24
Giao thức: Phân lập và lọc DNA bộ gen từ các mẫu máu bằng hệ thống chân không.....	24
Giao thức: Phân lập và lọc DNA bộ gen từ các mẫu máu bằng máy ly tâm nhỏ hoặc QIAcube/QIAcube Connect MDx.....	28
Kiểm soát Chất lượng .....	31
Hạn chế .....	31
Đặc tính Hiệu năng.....	32
Biểu tượng .....	37
Thông tin Đặt hàng.....	39
Lịch sử Sửa đổi Tài liệu.....	41

---

## Mục đích sử dụng

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit là một hệ thống sử dụng công nghệ màng silica (công nghệ QIAamp) để phân lập và lọc DNA bộ gen từ các mẫu sinh học.

Sản phẩm này dự định sẽ được sử dụng bởi người dùng chuyên nghiệp, ví dụ như kỹ thuật viên và bác sĩ được đào tạo về kỹ thuật sinh học phân tử.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit được sử dụng để chẩn đoán trong ống nghiệm.

# Mô tả và Nguyên tắc

Mỗi quy trình của QIAamp DSP DNA Blood Mini bao gồm 4 bước:

- Phân giải các tế bào trong mẫu máu
- Liên kết DNA bộ gen trong chất phân giải tế bào với màng của cột quay QIAamp Mini
- Rửa màng
- Rửa giải DNA bộ gen khỏi màng

Sổ tay này bao gồm các giao thức cho 2 quy trình thay thế của QIAamp DSP DNA Blood Mini: quy trình quay cần có máy ly tâm và quy trình hút chân không cần có máy ly tâm và hệ thống chân không (xem sơ đồ, trang 9). Quy trình quay có thể được tự động hóa trên QIAcube và QIAcube Connect MDx.

## Phân giải tế bào máu

Các mẫu được phân giải trong điều kiện biến tính ở nhiệt độ cao. Quá trình phân giải được thực hiện khi có QIAGEN Protease (QP) và Chất đệm Phân giải (AL).

## Liên kết DNA bộ gen với màng cột quay QIAamp Mini

Để tối ưu hóa sự liên kết của DNA bộ gen với màng cột quay QIAamp Mini, trước tiên, ethanol được thêm vào chất phân giải. Sau đó, mỗi chất phân giải được đưa vào cột quay QIAamp Mini và DNA bộ gen được hấp thụ vào màng silica khi chất phân giải được hút qua bằng áp suất chân không hoặc lực ly tâm.

## Lọc tự động trên QIAcube/QIAcube Connect MDx

QIAcube và QIAcube Connect MDx thực hiện việc phân lập và lọc tự động các axit nucleic. Thiết bị có thể xử lý tối đa 12 mẫu mỗi lần chạy.

Chuẩn bị mẫu bằng QIAcube và QIAcube Connect MDx tuân theo các bước tương tự như quy trình thủ công (tức là phân giải, liên kết, rửa và rửa giải), cho phép bạn tiếp tục sử dụng QIAamp DSP DNA Mini Kit để lọc DNA chất lượng cao.

Nếu tự động hóa QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit trên các dụng cụ QIAcube hoặc QIAcube Connect MDx, chúng có thể xử lý ít hơn 50 mẫu do thể tích chết, bay hơi và sử dụng thêm thuốc thử bằng cách hút pipet tự động. QIAGEN chỉ đảm bảo 50 lần chuẩn bị mẫu khi sử dụng thủ công QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



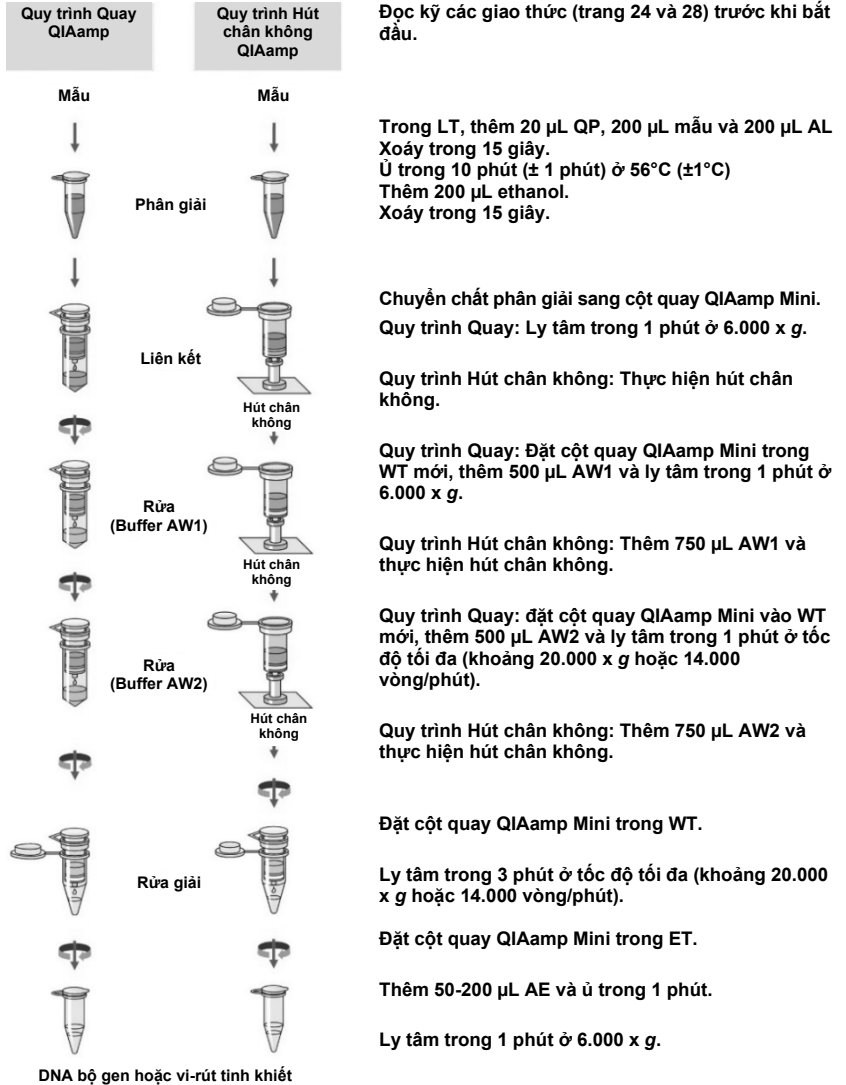
Hình 1. QIAcube.



Hình 2. QIAcube Connect MDx.



## Các Quy trình Quay và Hút chân không của QIAamp DSP DNA Blood Mini



---

## Tóm tắt và giải thích

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sử dụng công nghệ đã được chứng minh để cung cấp một cách thức nhanh chóng và dễ dàng nhằm phân lập và lọc DNA bộ gen từ 200 µL máu toàn phần.










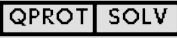


Các quy trình của QIAamp DSP DNA Blood Mini, được thiết kế để xử lý đồng thời nhiều mẫu máu, thu về DNA đã lọc sẵn sàng sử dụng. Quy trình này phù hợp để sử dụng với máu toàn phần tươi hoặc đông lạnh và máu đã được xử lý bằng citrate hoặc EDTA.

Quy trình quay và hút chân không QIAamp DSP là quy trình đơn giản, phù hợp để xử lý đồng thời nhiều mẫu. Một số quy trình quay QIAamp có thể chạy hoàn toàn tự động trên QIAcube hoặc QIAcube Connect MDx để tăng mức độ chuẩn hóa và dễ sử dụng (trang 7).

Không cần tách bạch cầu trước. Quy trình này không yêu cầu chiết xuất phenol/chloroform hoặc kết tủa cồn và chỉ cần mức độ tương tác tối thiểu từ người sử dụng, cho phép xử lý an toàn các mẫu có khả năng lây nhiễm. Các quy trình được thiết kế để giảm thiểu việc lây nhiễm chéo giữa các mẫu. DNA đã lọc sẵn sàng để sử dụng trong PCR hoặc các ứng dụng khác, ngoài ra còn có thể được bảo quản ở nhiệt độ  $-25^{\circ}\text{C}$  đến  $-15^{\circ}\text{C}$  để sử dụng sau này.

# Các vật liệu được cung cấp

## Thành phần bộ kit

<b>QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit</b>			
<b>Số catalog</b>			<b>61104</b>
<b>Số lượng chuẩn bị</b>			<b>50*</b>
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (QIAamp Mini Spin Columns có Ống rửa (WT)) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Ống Rửa giải) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (Ống phân giải) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Ống rửa) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer (Chất đệm Phân giải) <sup>†</sup>		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Chất đệm rửa 1) <sup>†</sup> (cô đặc)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Chất đệm rửa 2) <sup>‡</sup> (cô đặc)		13 ml
AE	Elution Buffer (Chất đệm Rửa giải) <sup>‡</sup>		25 ml
PS	Protease Solvent (Dung môi Protease) <sup>‡</sup>		2 ml
QP	QIAGEN Protease <sup>§</sup>		1 lọ
–	Hướng dẫn Sử dụng (Sổ tay)		1

\* Nếu tự động hóa QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit trên dụng cụ QIAcube hoặc QIAcube Connect MDx, dụng cụ có thể xử lý ít hơn 50 mẫu do thể tích chết, bay hơi và sử dụng thêm thuốc thử bằng cách hút pipet tự động. QIAGEN chỉ đảm bảo 50 lần chuẩn bị mẫu khi sử dụng thủ công QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

<sup>†</sup> Chứa guanidine hydrochloride. Không tương thích với chất khử trùng chứa thuốc tẩy. Để biết thêm thông tin, hãy xem Thông tin an toàn trên trang 14.

<sup>‡</sup> Chứa sodium azide làm chất bảo quản.

<sup>§</sup> Thể tích tái huyền phù 1,2 ml. Xem "Chuẩn bị thuốc thử và chất đệm" trên trang 19.

## Các vật liệu yêu cầu nhưng không được cung cấp

Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo bảng chỉ dẫn an toàn (Safety Data Sheet, SDS) thích hợp, có sẵn từ nhà cung cấp sản phẩm.

### Đối với quy trình quay và hút chân không

- Ethanol (96-100%)
- Pipet\* và đầu tip pipet (để ngăn ngừa lây nhiễm chéo, chúng tôi đặc biệt khuyên bạn nên sử dụng các đầu tip pipet có tấm chắn sol khí)
- Găng tay dùng một lần
- Khối gia nhiệt\* để phân giải mẫu ở 56°C (chúng tôi khuyên nghị dùng Eppendorf® Thermomixer® comfort với khóa nhiệt cho các ống nghiệm siêu nhỏ 1,5 ml†)
- Máy ly tâm nhỏ\*
- Xy lanh đo (50 ml)
- Máy xoáy

### Chỉ dành cho quy trình hút chân không

- Hệ thống chân không QIAvac 24 Plus (số catalog 19413) hoặc tương đương
- VacConnectors (số catalog 19407)
- VacValves (số catalog 19408)
- QIAvac Connecting System (số catalog 19419)
- Vacuum Pump (số catalog 84020)
- Vacuum Regulator (số catalog 19530)

\* Để đảm bảo các mẫu được xử lý đúng theo quy trình của QIAamp DSP DNA Blood Mini, chúng tôi đặc biệt khuyên nghị rằng các dụng cụ (ví dụ: pipet và khối gia nhiệt) phải được hiệu chuẩn theo khuyến nghị của nhà sản xuất.

† Danh sách này chưa bao gồm đầy đủ các nhà cung cấp và không bao gồm nhiều nhà cung cấp vật tư sinh học quan trọng.

---

## Chỉ dành cho quy trình tự động

- Rotor Adapters, số catalog 990394
- Rotor Adapter Holder, số catalog 990392
- Sample Tubes CB, số catalog 990382 (ống nạp mẫu)
- Shaker Rack Plugs, số catalog 9017854
- Reagent Bottles, 30 ml, số catalog 990393
- Filter Tips, 1000  $\mu$ l, số catalog 990352
- Filter Tips, 200  $\mu$ l, số catalog 990332
- SafeSeal Tube, 1.5 mL, Sarstedt® (số catalog 72.706)

# Cảnh báo và Thận trọng

Xin lưu ý rằng bạn có thể được yêu cầu báo cáo các sự cố nghiêm trọng đã xảy ra liên quan đến thiết bị cho nhà sản xuất và cơ quan quản lý nơi người dùng và/hoặc bệnh nhân cư trú.

## Thông tin an toàn

Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, vui lòng tham khảo các bảng chỉ dẫn an toàn (Safety Data Sheet, SDS) phù hợp. Các bảng này có sẵn trực tuyến ở định dạng PDF thuận tiện và nhỏ gọn tại [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), nơi bạn có thể tìm, xem và in SDS cho mỗi bộ dụng cụ QIAGEN và thành phần của bộ dụng cụ.



**THẬN TRỌNG:** KHÔNG thêm thuốc tẩy hoặc dung dịch axit trực tiếp vào chất thải chuẩn bị mẫu.

Chất đệm Phân giải (AL) và Chất đệm rửa 1 (AW1) chứa guanidine hydrochloride, có thể tạo thành các hợp chất phản ứng cao khi kết hợp với thuốc tẩy. Nếu chất lỏng chứa các chất đệm này bị đổ, hãy làm sạch bằng nước và chất tẩy phù hợp trong phòng thí nghiệm. Nếu chất lỏng bị đổ có chứa các tác nhân có khả năng lây nhiễm, trước tiên hãy vệ sinh khu vực bị ảnh hưởng bằng chất tẩy và nước trong phòng thí nghiệm, sau đó với sodium hypochlorite 1% (thể tích/thể tích). Nếu chai đựng chất đệm bị hư hỏng hoặc rò rỉ, hãy đeo găng tay và kính bảo hộ khi vứt bỏ chai để tránh gây thương tích cho bản thân hoặc thương tích cho người khác.

QIAGEN chưa kiểm định các chất lây nhiễm tồn dư trong chất thải lỏng được tạo ra từ các quy trình của QIAamp DSP DNA Blood Mini. Việc nhiễm chất thải lỏng có các chất lây nhiễm tồn dư là khó xảy ra, nhưng không thể loại trừ hoàn toàn. Do đó, chất thải lỏng phải được coi là có khả năng lây nhiễm và được xử lý và loại bỏ theo các quy định an toàn của địa phương.

Các cụm từ về rủi ro và an toàn sau đây được áp dụng cho các thành phần của QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

### Chất đệm Phân giải (AL) và Chất đệm rửa 1 (AW1)



Chứa: guanidine hydrochloride. Cảnh báo! Có hại nếu nuốt phải hoặc nếu hít phải. Gây kích ứng da. Gây kích ứng mắt nghiêm trọng. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ đồ bảo vệ mắt/ bảo vệ mặt.

### QIAGEN Protease (QP)



Chứa: subtilisin. Nguy hiểm! Có hại nếu nuốt phải. Gây kích ứng da. Gây tổn thương mắt nghiêm trọng. Có thể gây ra các triệu chứng dị ứng hoặc hen suyễn hoặc khó thở nếu hít phải. Có thể gây kích ứng đường hô hấp. Tránh hít bụi/khói/khí/sương/hơi/bụi nước. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ đồ bảo vệ mắt/ bảo vệ mặt. Đeo thiết bị bảo vệ đường hô hấp. **NẾU TIẾP XÚC VỚI MẮT:** Rửa cẩn thận với nước trong vài phút. Tháo kính áp tròng, nếu có và dễ dàng thực hiện. Tiếp tục rửa. **NẾU tiếp xúc hoặc dính vào:** Gọi ngay cho **TRUNG TÂM CHỐNG ĐỘC** hoặc bác sĩ y khoa/bác sĩ. Di chuyển nạn nhân đến nơi thoáng khí và cho nghỉ ngơi ở tư thế dễ thở.



## Bảo quản và Xử lý Thuốc thử

Cột quay QIAamp Mini nên được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C khi đến nơi và có thể được sử dụng cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp bộ dụng cụ.

Tất cả các chất đệm có thể được bảo quản ở nhiệt độ phòng (15-25°C) cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp bộ dụng cụ.

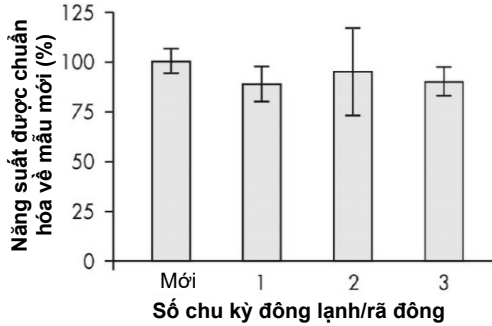
QIAGEN Protease (QP) đông khô có thể được bảo quản ở nhiệt độ phòng (15-25°C) cho đến ngày hết hạn của bộ dụng cụ mà không ảnh hưởng đến hiệu năng. QIAGEN Protease hoàn nguyên ổn định trong thời hạn tối đa 1 năm khi được bảo quản ở 2-8°C, nhưng chỉ cho đến ngày hết hạn của bộ dụng cụ.

Chất đệm rửa 1 (AW1) hoàn nguyên và Chất đệm rửa 2 (AW2) hoàn ổn định trong thời hạn tối đa 1 năm khi được bảo quản ở nhiệt độ phòng (15-25°C), nhưng chỉ cho đến ngày hết hạn của bộ dụng cụ.

## Bảo quản và Xử lý Mẫu

Các kết tủa lạnh hình thành trong quá trình rã đông các mẫu đông lạnh sẽ làm tắc nghẽn màng cột quay QIAamp Mini. Nếu có thể nhìn thấy các chất kết tủa lạnh, tránh hút chúng trong quá trình hút mẫu. Ảnh hưởng của việc đông lạnh và rã đông mẫu máu đối với quá trình lọc DNA bằng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit đã được xác định (xem Hình 3).





**Hình 3. Ảnh hưởng của việc đông lạnh và rã đông mẫu máu.** Máu đã qua xử lý bằng EDTA được đông lạnh và rã đông tối đa 3 lần, sau đó được lọc DNA bằng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Năng suất DNA đã tính được chuẩn hóa về năng suất từ mẫu mới (100%). Mỗi thanh trên biểu đồ đại diện cho kết quả từ 32 lần lặp lại (trung bình ± độ lệch chuẩn).

Lượng DNA được lọc trong quy trình của QIAamp DSP DNA Blood Mini phụ thuộc vào hàm lượng bạch cầu của mỗi mẫu máu. Sử dụng quy trình quay hoặc hút chân không, DNA bộ gen được lọc từ 200 µL mẫu máu từ những người hiến khỏe mạnh. Nhiều ống nghiệm sơ cấp và chất chống đông máu khác nhau có thể được sử dụng để thu thập mẫu máu cho các quy trình của QIAamp DSP DNA Blood Mini (Bảng 1).

**Bảng 1. Năng suất tương đối trung bình của DNA từ các mẫu máu được thu thập bằng cách sử dụng các ống nghiệm sơ cấp và chất chống đông máu khác nhau**

Ống nghiệm sơ cấp	Nhà sản xuất	Số catalog	Thể tích danh nghĩa	Năng suất trung bình*
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

DNA bộ gen được lọc từ 200 µL mẫu máu của những người hiến khỏe mạnh (4,0 đến 9,0 x 10<sup>6</sup> tế bào trên mỗi ml).

\* Đối với mỗi ống nghiệm sơ cấp, năng suất trung bình được xác định từ 11 mẫu gồm ba bản sao.

## Loại bỏ các chất nhiễm bẩn tồn dư

Trong khi DNA bộ gen vẫn liên kết với màng QIAamp Mini Spin Column, các chất nhiễm bẩn được rửa trôi một cách hiệu quả bằng cách sử dụng Chất đệm rửa 1 (AW1) trước hết, sau đó là Chất đệm rửa 2 (AW2).

## Rửa giải DNA bộ gen tinh khiết

DNA bộ gen được rửa giải từ màng QIAamp Mini Spin Column, sử dụng 50-200  $\mu$ L Chất đệm Rửa giải (AE). DNA đã rửa giải sẵn sàng để sử dụng trong các xét nghiệm xuôi dòng khác nhau, bao gồm nhiều loại xét nghiệm xuôi dòng chẩn đoán trong ống nghiệm.

## Lưu ý Quan trọng

### Những điểm quan trọng trước khi bắt đầu giao thức

- Sau khi nhận được bộ dụng cụ, hãy kiểm tra các thành phần của bộ dụng cụ xem có bị hư hỏng không. Nếu gói xốp hoặc chai đựng chất đệm bị hỏng, hãy liên hệ với bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN hoặc nhà phân phối tại địa phương của bạn. Trong trường hợp chất lỏng bị vấy đổ, hãy tham khảo “Thông tin an toàn” (trang 14). Không sử dụng các thành phần bị hư hỏng của bộ dụng cụ vì việc sử dụng chúng có thể dẫn đến bộ dụng cụ hoạt động không chính xác.
- Luôn thay đầu tip pipet giữa các lần chuyển chất lỏng. Để giảm thiểu việc lây nhiễm chéo, chúng tôi khuyên bạn nên sử dụng các đầu tip pipet có tấm chắn sol khí.
- Tất cả các bước ly tâm được thực hiện ở nhiệt độ phòng (15-25°C).
- Luôn sử dụng găng tay dùng một lần và thường xuyên kiểm tra để đảm bảo rằng chúng không bị nhiễm bẩn từ vật liệu mẫu. Thải bỏ găng tay nếu chúng bị nhiễm bẩn.
- Để giảm thiểu lây nhiễm chéo, chỉ mở một ống mỗi lần.
- Không sử dụng các thành phần của bộ dụng cụ khác với bộ mà bạn hiện đang sử dụng, trừ khi chúng có số lô giống hệt nhau.

- Tránh gây nhiễm bẩn vi sinh vật cho các thuốc thử của bộ dụng cụ.
- Để giảm thiểu nguy cơ lây nhiễm từ vật liệu có khả năng lây nhiễm, chúng tôi khuyến nghị bạn nên làm việc trong phòng có thổi gió từng lớp cho đến khi mẫu được phân giải.
- Bộ dụng cụ này chỉ nên được sử dụng bởi nhân viên đã được đào tạo về thực hành chẩn đoán trong ống nghiệm của phòng thí nghiệm.

## Chuẩn bị thuốc thử và chất đệm

- Chuẩn bị QIAGEN Protease

Thêm 1,2 ml Dung môi Protease (PS) vào lọ QIAGEN Protease (QP) được đông khô và trộn kỹ. Để tránh tạo bọt, trộn bằng cách đảo ngược lọ nhiều lần. Đảm bảo rằng QIAGEN Protease (QP) được hòa tan hoàn toàn.

**Quan trọng:** Không thêm QIAGEN Protease (QP) trực tiếp vào Chất đệm Phân giải (AL).

- Chuẩn bị Chất đệm rửa 1

Sử dụng một xy lanh đo, thêm 25 ml ethanol (96-100%) vào chai chứa 19 ml Chất đệm rửa 1 (AW1) cô đặc. Bảo quản Chất đệm rửa 1 (AW1) đã hoàn nguyên ở nhiệt độ phòng (15-25°C).

**Quan trọng:** Luôn trộn Chất đệm rửa 1 (AW1) đã hoàn nguyên bằng cách đảo ngược chai nhiều lần trước khi bắt đầu quy trình.

- Chuẩn bị Chất đệm rửa 2

Sử dụng một xy lanh đo, thêm 30 ml ethanol (96-100%) vào chai chứa 13 ml Chất đệm rửa 2 (AW2) cô đặc. Bảo quản Chất đệm rửa 2 (AW2) đã hoàn nguyên ở nhiệt độ phòng (15-25°C).

**Quan trọng:** Luôn trộn Chất đệm rửa 2 (AW2) đã hoàn nguyên bằng cách đảo ngược chai nhiều lần trước khi bắt đầu quy trình.

- Chuẩn bị Chất đệm Rửa giải

Một chai Chất đệm Rửa giải (AE) được cung cấp kèm theo bộ dụng cụ. Để ngăn chặn nhiễm bẩn Chất đệm Rửa giải (AE), chúng tôi khuyên bạn nên sử dụng các đầu tip pipet có màng chắn sol khí khi hút Chất đệm Rửa giải (AE) từ chai và đậy nắp chai lại ngay sau đó.

**Quan trọng:** Chất đệm Rửa giải (AE) chứa chất bảo quản sodium azide, cho thấy độ hấp thụ ở 260 nm. Do đó, khi định lượng DNA trong chất rửa giải bằng phép đo độ hấp thụ ở 260 nm, khi xác định độ tinh khiết của DNA trong chất rửa giải bằng phép đo độ hấp thụ ở 260 nm và 280 nm hoặc khi quét độ hấp thụ trong khoảng từ 220 nm đến 350 nm, đảm bảo rằng dung dịch trắng chứa cùng nồng độ sodium azide với chất rửa giải. Ví dụ, nếu chuẩn bị chất rửa giải cho các phép đo độ hấp thụ bằng cách pha loãng 50  $\mu\text{L}$  chất rửa giải với 100  $\mu\text{L}$  nước, thì bạn nên chuẩn bị dung dịch trắng bằng cách pha loãng 50  $\mu\text{L}$  Chất đệm Rửa giải (AE) với 100  $\mu\text{L}$  nước. Sử dụng nước cất mới để pha loãng.

## Xử lý các cột quay QIAamp Mini

Do độ nhạy của công nghệ khuếch đại axit nucleic, các biện pháp phòng ngừa sau là cần thiết khi xử lý các cột quay QIAamp Mini để tránh lây nhiễm chéo giữa các lần chuẩn bị mẫu:

- Đưa mẫu hoặc dung dịch vào cột quay QIAamp Mini một cách cẩn thận. Hút pipet mẫu vào cột quay QIAamp Mini mà không làm ướt vành cột.
- Luôn thay đầu tip pipet giữa các lần chuyển chất lỏng. Chúng tôi khuyên bạn nên sử dụng các đầu tip pipet có tấm chắn sol khí.
- Tránh chạm màng cột quay QIAamp Mini vào đầu tip pipet.
- Sau tất cả các bước tạo xoáy xung, ly tâm các ống ly tâm nhỏ trong một thời gian ngắn để loại bỏ các giọt từ bên trong nắp.
- Mỗi lần chỉ mở một cột quay QIAamp Mini và cẩn thận để tránh tạo ra sol khí.
- Mang găng tay trong suốt quy trình. Trong trường hợp găng tay tiếp xúc với mẫu, hãy thay găng tay ngay lập tức.

---

## Rửa giải DNA bộ gen

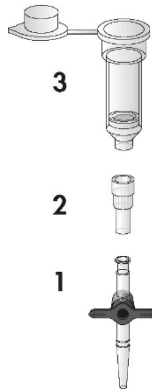
Thể tích DNA được rửa giải từ cột quay QIAamp Mini có thể nhỏ hơn đến 20  $\mu$ L so với thể tích của Chất đệm Rửa giải (AE) được sử dụng cho cột. Thể tích chất rửa giải thu hồi phụ thuộc vào tính chất của mẫu. Chất đệm Rửa giải (AE) phải được cân bằng về nhiệt độ phòng (15-25°C) trước khi sử dụng cho cột. DNA rửa giải được thu thập trong các ống rửa giải (ET). Nếu bảo quản DNA trong tối đa 4 tuần, chúng tôi khuyên bạn nên bảo quản ở 2-8°C. Để bảo quản lâu dài, nên bảo quản ở nhiệt độ -30 đến -15°C.

## Năng suất và chất lượng của DNA bộ gen

Năng suất và chất lượng của DNA bộ gen được phân lập phù hợp với nhiều loại quy trình phát hiện xuôi dòng trong chẩn đoán phân tử. Các xét nghiệm chẩn đoán phải được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

## Thiết lập hệ thống chân không QIAvac 24 Plus

Đảm bảo rằng bạn đã thiết lập cột quay QIAamp Mini, VacConnector (VC) và VacValve một cách chính xác (xem Hình 4).



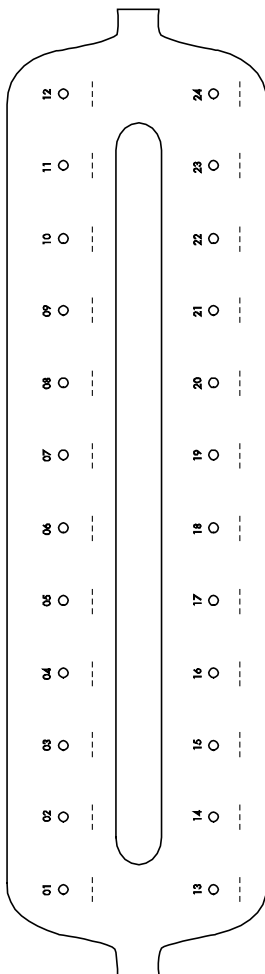
**Hình 4. Lắp ráp các thành phần của QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit để xử lý chân không các mẫu.**  
(1) VacValve (2) VacConnector (VC) (3) Cột quay QIAamp Mini

Nếu sử dụng quy trình hút chân không với hệ thống chân không QIAvac 24 Plus, chúng tôi khuyên bạn nên dán nhãn các ống phân giải (LT), ống rửa giải (ET) và cột quay QIAamp Mini theo sơ đồ trong Hình 5 (xem trang tiếp theo) để tránh trộn lẫn các mẫu. Hình này có thể được sao chụp và dán nhãn tên của các mẫu. Chúng tôi khuyên bạn nên sử dụng sơ đồ tương tự nếu sử dụng các hệ thống chân không khác hoặc nếu sử dụng quy trình quay.

Ngày: \_\_\_\_\_

Người vận hành: \_\_\_\_\_

ID lần chạy: \_\_\_\_\_



**Hình 5. Sơ đồ dán nhãn cho ống phân giải (LT), ống rửa giải (ET) và cột quay QIAamp Mini để sử dụng trên hệ thống chân không QIAvac 24 Plus.**

# Quy trình

## Giao thức: Phân lập và lọc DNA bộ gen từ các mẫu máu bằng hệ thống chân không

Để phân lập và lọc DNA bộ gen từ 200  $\mu$ L mẫu máu toàn phần đã được xử lý bằng EDTA hoặc citrate với hệ thống chân không như hệ thống chân không QIAvac 24 Plus.

### Những điểm quan trọng trước khi bắt đầu

Quy trình dưới đây cung cấp các hướng dẫn để xử lý một mẫu máu. Tuy nhiên, có thể xử lý tối đa 24 mẫu cùng một lúc trên hệ thống chân không QIAvac 24 Plus.

### Những việc cần làm trước khi bắt đầu

- Cân bằng mẫu máu về nhiệt độ phòng và đảm bảo rằng chúng được trộn kỹ.
- Nếu chất kết tủa đã hình thành trong Chất đệm Phân giải (AL), hòa tan bằng cách ủ ở 56°C.
- Đảm bảo rằng Chất đệm rửa 1 (AW1), Chất đệm rửa 2 (AW2) và QIAGEN Protease (QP) đã được chuẩn bị theo hướng dẫn trong “Chuẩn bị thuốc thử và chất đệm” trên trang 19.
- Cân bằng Chất đệm Rửa giải (AE) về nhiệt độ phòng để sử dụng trong bước 14.
- Đặt khối gia nhiệt đến 56°C để sử dụng trong bước 4.
- Để giảm thiểu lây nhiễm chéo, hãy lắp VacConnector (VC) vào mỗi bộ điều hợp luer của hệ thống chân không.
- Quy trình kiểm soát chất lượng tại QIAGEN sử dụng thử nghiệm phát hành bộ dụng cụ chức năng cho từng lô bộ dụng cụ riêng lẻ. Do đó, không trộn lẫn thuốc thử từ các lô bộ dụng cụ khác nhau và không kết hợp thuốc thử từ các lô thuốc thử khác nhau.
- Đảm bảo rằng bình chứa chất thải của hệ thống chân không rỗng và tất cả các khớp nối được kết nối chính xác.
- Để biết chi tiết về hoạt động của hệ thống chân không, đặc biệt là bảo trì, hãy tham khảo sổ tay được cung cấp kèm theo.



## Quy trình

1. Hút 20  $\mu\text{L}$  QIAGEN Protease (QP) vào ống phân giải (LT).

**Lưu ý:** Kiểm tra ngày hết hạn của protease đã hoàn nguyên trước khi sử dụng.

2. Thêm 200  $\mu\text{L}$  mẫu máu vào ống phân giải (LT).
3. Thêm 200  $\mu\text{L}$  Chất đệm Phân giải (AL) vào ống phân giải (LT), đậy nắp và trộn bằng cách xoay xung trong 15 giây.

Để đảm bảo phân giải hiệu quả, điều quan trọng là mẫu và Chất đệm Phân giải (AL) được trộn kỹ để tạo ra một dung dịch đồng nhất.

**Lưu ý:** Vì Chất đệm Phân giải (AL) có độ nhớt cao, hãy đảm bảo thêm đúng thể tích Chất đệm Phân giải (AL) bằng cách hút pipet kỹ hoặc bằng cách sử dụng pipet thích hợp.

**Lưu ý:** Không thêm QIAGEN Protease (QP) trực tiếp vào Chất đệm Phân giải (AL).

4. Ủ ở  $56^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) trong 10 phút ( $\pm 1$  phút).
5. Ly tâm ống phân giải (LT) trong  $\geq 5$  giây ở tốc độ tối đa để loại bỏ các giọt từ bên trong nắp.
6. Thêm 200  $\mu\text{L}$  ethanol (96-100%) vào ống phân giải (LT), đậy nắp và trộn kỹ bằng xoay xung trong  $\geq 15$  giây.
7. Ly tâm ống phân giải (LT) trong  $\geq 5$  giây ở tốc độ tối đa để loại bỏ các giọt từ bên trong nắp.
8. Lắp cột quay QIAamp Mini vào VacConnector (VC) trên hệ thống chân không. Đảm bảo rằng van chân không chính (giữa hệ thống chân không và ống góp chân không) và van nắp vận (trên ống góp chân không) đóng. Bật bơm chân không.

Thải bỏ ống rửa (WT) (2 ml) trong đó cột quay QIAamp Mini được đặt trong xốp.

Chân không chỉ được áp dụng cho hệ thống kết nối (nếu được sử dụng) và không được dùng cho ống góp chân không.

9. Cẩn thận sử dụng toàn bộ chất phân giải từ bước 7 cho cột quay QIAamp Mini mà không làm ướt vành. Tránh chạm màng cột quay QIAamp Mini vào đầu tip pipet.

**Lưu ý:** Nếu xử lý một vài mẫu, chỉ mở một ống phân giải (LT) một lần.

10. Mở van chân không chính. Sau khi chất phân giải được hút qua cột quay QIAamp Mini, đóng van chân không chính và mở van nắp vặn trên ống góp chân không để thông hơi cho ống góp. Đóng van nắp vặn sau khi chân không được xả ra khỏi ống góp.

Sau khi đóng van chân không chính, chân không chỉ được áp dụng cho hệ thống kết nối (nếu được sử dụng) và không được dùng cho ống góp chân không.

**Lưu ý:** Sử dụng van nắp vặn của ống góp chân không để xả chân không nhanh chóng.

**Lưu ý:** Nếu xử lý nhiều cột quay QIAamp Mini cùng một lúc, chúng tôi khuyên bạn nên đóng VacValve của mỗi cột sau khi chất phân giải đi qua để giảm thời gian của bước chân không này.

**Lưu ý:** Nếu chất phân giải vẫn chưa hoàn toàn đi qua màng sau 10 phút, đặt cột quay QIAamp Mini vào một ống rửa (WT) sạch, đóng nắp và ly tâm ở 6.000 x g (8.000 vòng/phút) trong 3 phút hoặc cho đến khi chất phân giải đã hoàn toàn đi qua. Đặt cột quay QIAamp Mini vào một ống rửa (WT) sạch khác và tiếp tục với bước 10 của giao thức trên trang 30.

**Lưu ý:** Nếu chất phân giải vẫn không đi qua màng trong khi ly tâm, hãy loại bỏ mẫu và lặp lại quá trình phân lập và lọc bằng vật liệu mẫu mới bắt đầu từ bước 1 trên trang 29.

11. Đưa 750  $\mu$ L Chất đệm rửa 1 (AW1) vào cột quay QIAamp Mini mà không làm ướt vành. Tránh chạm màng cột quay QIAamp Mini vào đầu tip pipet. Để nắp cột mở và mở van chân không chính. Sau khi Chất đệm rửa 1 (AW1) đã được hút qua cột quay QIAamp Mini, đóng van chân không chính và mở van nắp vặn để thông hơi cho ống góp. Đóng van nắp vặn sau khi chân không được xả ra khỏi ống góp.

12. Đưa 750  $\mu$ L Chất đệm rửa 2 (AW2) vào cột quay QIAamp Mini mà không làm ướt vành. Tránh chạm màng cột quay QIAamp Mini vào đầu tip pipet. Để nắp cột mở và mở van chân không chính. Sau khi Chất đệm rửa 2 (AW2) đã được hút qua cột quay QIAamp Mini, đóng van chân không chính và mở van nắp vặn để thông hơi cho ống góp. Đóng van nắp vặn sau khi chân không được xả ra khỏi ống góp.

---

13. Đóng nắp của cột quay QIAamp Mini, tháo nó ra khỏi hệ thống chân không và thải bỏ VacConnector (VC). Đặt cột quay QIAamp Mini vào ống rửa (WT) sạch và ly tâm ở tốc độ tối đa (khoảng 20.000 x g hoặc 14.000 vòng/phút) trong 3 phút để làm khô màng hoàn toàn.

**Lưu ý:** Việc bỏ qua quá trình ly tâm khô có thể dẫn đến sự ức chế xét nghiệm xuôi dòng.

14. Đặt cột quay QIAamp Mini vào ống rửa giải (ET) sạch và thải bỏ ống rửa (WT) chứa chất lọc. Care thận mở nắp của cột quay QIAamp Mini và đưa 50 đến 200  $\mu$ L Chất đệm Rửa giải (AE) vào tâm của màng. Đậy nắp và ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 phút. Ly tâm ở 6.000 x g (8.000 vòng/phút) trong 1 phút để rửa giải DNA.

**Lưu ý:** Làm theo quy trình bảo trì cho hệ thống chân không sau khi thực hiện giao thức này (xem sổ tay được cung cấp cùng với hệ thống chân không để biết thêm chi tiết).

## Giao thức: Phân lập và lọc DNA bộ gen từ các mẫu máu bằng máy ly tâm nhỏ hoặc QIAcube/QIAcube Connect MDx

Để phân lập và lọc DNA bộ gen từ 200  $\mu$ L mẫu máu toàn phần đã được xử lý bằng EDTA hoặc citrate với máy ly tâm nhỏ hoặc tự động trên QIAcube hoặc QIAcube Connect MDx.

### Những điểm quan trọng trước khi bắt đầu

- Quy trình dưới đây cung cấp các hướng dẫn để xử lý một mẫu máu. Tuy nhiên, một số mẫu có thể được xử lý cùng một lúc; số lượng phụ thuộc vào công suất của máy ly tâm nhỏ được sử dụng.
- Quá trình xử lý tự động từ 2-10 hoặc 12 mẫu có thể được thực hiện trên các dụng cụ QIAcube hoặc QIAcube Connect MDx.
- Để tự động hóa, hãy làm theo hướng dẫn từ Bảng giao thức (QIAcube) hoặc trên màn hình phần mềm (QIAcube Connect MDx) và *Hướng dẫn sử dụng QIAcube hoặc QIAcube Connect MDx*.

### Những việc cần làm trước khi bắt đầu

- Cân bằng mẫu máu về nhiệt độ phòng và đảm bảo rằng chúng được trộn kỹ.
- Nếu chất kết tủa đã hình thành trong Chất đệm Phân giải (AL), hòa tan bằng cách ủ ở 56°C.
- Đảm bảo rằng Chất đệm rửa 1 (AW1), Chất đệm rửa 2 (AW2) và QIAGEN Protease (QP) đã được chuẩn bị theo hướng dẫn trong “Chuẩn bị thuốc thử và chất đệm” trên trang 19.
- Cân bằng Chất đệm Rửa giải (AE) về nhiệt độ phòng để sử dụng trong bước 15.
- Đặt khối gia nhiệt đến 56°C để sử dụng trong bước 4.
- Quy trình kiểm soát chất lượng tại QIAGEN sử dụng thử nghiệm phát hành bộ dụng cụ chức năng cho từng lô bộ dụng cụ riêng lẻ. Do đó, không trộn lẫn thuốc thử từ các lô bộ dụng cụ khác nhau và không kết hợp thuốc thử từ các lô thuốc thử khác nhau.

## Quy trình

- Đối với quy trình thủ công với máy ly tâm nhỏ, hãy làm theo các bước 1 - 15.
  - Quy trình này có thể được tự động hóa trong 3 phiên bản khác nhau:
    - Thể tích rửa giải: Tự động hóa hoàn toàn 100  $\mu\text{L}$  với thể tích rửa giải 100  $\mu\text{L}$  (bắt đầu từ bước 1)
    - Thể tích rửa giải: Tự động hóa hoàn toàn 200  $\mu\text{L}$  với thể tích rửa giải 200  $\mu\text{L}$  (bắt đầu từ bước 1)
    - Phân giải thủ công: Tự động một phần với phân giải thủ công ngoài hệ thống (bắt đầu sau bước 5)
1. Hút 20  $\mu\text{L}$  QIAGEN Protease (QP) vào ống phân giải (LT).

**Lưu ý:** Kiểm tra ngày hết hạn của protease đã hoàn nguyên trước khi sử dụng.
  2. Thêm 200  $\mu\text{L}$  mẫu máu vào ống phân giải (LT).
  3. Thêm 200  $\mu\text{L}$  Chất đệm Phân giải (AL) vào ống phân giải (LT), đậy nắp và trộn bằng cách xoáy xung trong 15 giây.

Để đảm bảo phân giải hiệu quả, điều quan trọng là mẫu và Chất đệm Phân giải (AL) được trộn kỹ để tạo ra dung dịch đồng nhất.

**Lưu ý:** Vì Chất đệm Phân giải (AL) có độ nhớt cao, hãy đảm bảo thêm đúng thể tích Chất đệm Phân giải (AL) bằng cách hút pipet kỹ hoặc bằng cách sử dụng pipet thích hợp.

**Lưu ý:** Không thêm QIAGEN Protease (QP) trực tiếp vào Chất đệm Phân giải (AL).
  4. Ủ ở 56°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) trong 10 phút ( $\pm 1$  phút).
  5. Ly tâm ống phân giải (LT) trong  $\geq 5$  giây ở tốc độ tối đa để loại bỏ các giọt từ bên trong nắp.

**Lưu ý:** Nếu phân giải thủ công (bước 1 - 5) đã được thực hiện ngoài hệ thống, các bước sau (bước 6 - 15) có thể được tự động hóa trên QIAcube hoặc QIAcube Connect MDx bằng cách sử dụng giao thức cho phân giải thủ công.
  6. Thêm 200  $\mu\text{L}$  ethanol (96-100%) vào ống phân giải (LT), đậy nắp và trộn kỹ bằng xoáy xung trong  $\geq 15$  giây.
  7. Ly tâm ống phân giải (LT) trong  $\geq 5$  giây ở tốc độ tối đa để loại bỏ các giọt từ bên trong nắp.

8. Cần thận sử dụng toàn bộ chất phân giải từ bước 7 cho cột quay QIAamp Mini mà không làm ướt vành. Tránh chạm màng cột quay QIAamp Mini vào đầu tip pipet.

**Lưu ý:** Nếu xử lý một vài mẫu, chỉ mở một ống phân giải (LT) một lần.

9. Đậy nắp cột quay QIAamp Mini và ly tâm ở khoảng 6.000 x g trong 1 phút. Đặt cột quay QIAamp Mini vào một ống rửa (WT) sạch và thải bỏ ống có chứa chất lọc.

**Lưu ý:** Nếu chất phân giải không hoàn toàn đi qua màng sau khi ly tâm ở 6.000 x g (8.000 vòng/phút), ly tâm lại ở tốc độ tối đa (lên tới 20.800 x g) trong 1 phút.

**Lưu ý:** Nếu chất phân giải vẫn không đi qua màng trong khi ly tâm, hãy loại bỏ mẫu và lặp lại quá trình phân lập và lọc bằng vật liệu mẫu mới bắt đầu từ bước 1 trên trang 29.

10. Cần thận mở cột quay QIAamp Mini và thêm 500  $\mu$ L Chất đệm rửa 1 (AW1) mà không làm ướt vành. Tránh chạm màng cột quay QIAamp Mini vào đầu tip pipet.

11. Đậy nắp cột quay QIAamp Mini và ly tâm ở khoảng 6.000 x g trong 1 phút. Đặt cột quay QIAamp Mini vào một ống rửa (WT) sạch và thải bỏ ống có chứa chất lọc.

12. Cần thận mở cột quay QIAamp Mini và thêm 500  $\mu$ L Chất đệm rửa 2 (AW2) mà không làm ướt vành. Tránh chạm màng cột quay QIAamp Mini vào đầu tip pipet.

13. Đậy nắp cột quay QIAamp Mini và ly tâm ở tốc độ tối đa (khoảng 20.000 x g hoặc 14.000 vòng/phút) trong 1 phút. Đặt cột quay QIAamp Mini vào một ống rửa (WT) sạch và thải bỏ ống có chứa chất lọc.

14. Ly tâm ở tốc độ tối đa (khoảng 20.000 x g hoặc 14.000 vòng/phút) trong 3 phút để làm khô màng hoàn toàn.

**Lưu ý:** Việc bỏ qua quá trình ly tâm khô có thể dẫn đến sự ức chế xét nghiệm xuôi dòng.

15. Đặt cột quay QIAamp Mini vào ống rửa giải (ET) sạch và thải bỏ ống rửa (WT) chứa chất lọc. Cần thận mở nắp của cột quay QIAamp Mini và đưa 50 đến 200  $\mu$ L Chất đệm Rửa giải (AE) vào tâm của màng. Đậy nắp và ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 phút. Ly tâm ở gần 6.000 x g (8.000 vòng/phút) trong 1 phút để rửa giải DNA.

**Lưu ý Quan trọng:** Trong trường hợp tất cả các quy trình tự động, hãy loại bỏ các chất rửa giải khỏi dụng cụ ngay sau khi chạy xong và bảo quản chúng đúng cách.

---

# Kiểm soát Chất lượng

Theo Hệ thống Quản lý Chất lượng được chứng nhận ISO của QIAGEN, mỗi lô QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit được thử nghiệm theo các thông số kỹ thuật đã được xác định trước để bảo đảm chất lượng sản phẩm đồng nhất.

## Hạn chế

Hệ thống cho thấy hiệu năng khi sử dụng máu toàn phần để phân lập DNA bộ gen.

Trách nhiệm của người dùng là xác nhận hiệu năng của hệ thống đối với bất kỳ quy trình nào được sử dụng trong phòng thí nghiệm của họ mà không được đề cập trong các nghiên cứu về hiệu năng của QIAGEN.

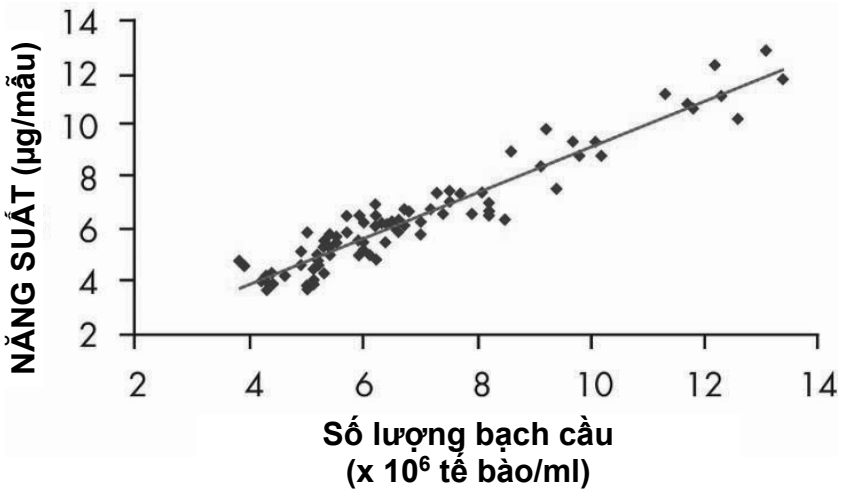
Để giảm thiểu nguy cơ tác động tiêu cực đến kết quả chẩn đoán, cần sử dụng các biện pháp kiểm soát thích hợp cho các ứng dụng xuôi dòng. Để xác nhận thêm, chúng tôi khuyến nghị xem các hướng dẫn của International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) trong ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology.

Bất kỳ kết quả chẩn đoán nào được tạo ra phải được giải thích kết hợp với các kết quả lâm sàng hoặc thí nghiệm khác.

# Đặc tính Hiệu năng

## Năng suất DNA được lọc

Phạm vi tuyến tính của năng suất DNA thu được bằng quy trình hút chân không của QIAamp DSP DNA Blood Mini đã được xác định cho máu từ những người hiến khỏe mạnh có số lượng bạch cầu là  $3,8 \times 10^6$  -  $1,34 \times 10^7$  tế bào/ml (xem Hình 6).



**Hình 6.** Phạm vi tuyến tính của năng suất DNA sử dụng quy trình hút chân không QIAamp DSP DNA Blood Mini với thể tích rửa giải 200 µL. Số lượng bạch cầu của những người hiến khỏe mạnh được xác định và nằm trong khoảng  $3,8 \times 10^6$  -  $1,34 \times 10^7$  tế bào/ml. DNA được lọc từ các mẫu máu sử dụng quy trình hút chân không QIAamp DSP DNA Blood Mini với thể tích rửa giải 200 µL. Tám mươi bảy mẫu gồm ba bản sao đã được xử lý.

## Hiệu năng trong các xét nghiệm xuôi dòng

DNA bộ gen đã rửa giải sẵn sàng để sử dụng trong các xét nghiệm xuôi dòng khác nhau, bao gồm nhiều loại xét nghiệm xuôi dòng chẩn đoán trong ống nghiệm (Bảng 2 đến Bảng 6). Ảnh hưởng của thể tích rửa giải và thể tích chất rửa giải được sử dụng trong PCR đến hiệu năng của PCR đã được xác định (xem Bảng 7).



**Bảng 2. Định kiểu HLA bằng cách sử dụng Xét nghiệm Dynal® AllSet™ SSP HLA-A “Low Resolution”, HLA-B “Low Resolution”, DR “Low Resolution” và DQ “Low Resolution”**

HLA locus A		HLA locus B		HLA locus DR		HLA locus DQ	
Kiểu gen	Số	Kiểu gen	Số	Kiểu gen	Số	Kiểu gen	Số
A2/A3	2	B51, B51/B13 hoặc B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 hoặc DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 hoặc 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	Khác	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Khác	0			DR15	1	Khác	0
				DR1/DR7	1		
				Khác	0		

Máu toàn phần được thu thập từ những người hiến riêng lẻ và DNA bộ gen được lọc từ 200 µL máu toàn phần bằng cách sử dụng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Sử dụng Xét nghiệm Dynal AllSet<sup>+</sup> SSP (Thermo Fisher Scientific hoặc các công ty con của họ), các alen được xác định tại các locus được chỉ định trong số lượng cá thể nhất định. Số: số lượng cá thể.

**Bảng 3. Định kiểu gen Yếu tố V Leiden (Factor V Leiden, FV) sử dụng Bộ dụng cụ Phát hiện Đột biến LightCycler® Factor V Leiden**

Kiểu gen	Số lượng
Kiểu tự nhiên	17
FV G16191 A thể dị hợp tử	13
FV G16191 A thể đồng hợp tử	0

Máu toàn phần được thu thập từ 30 người hiến riêng lẻ và DNA bộ gen được lọc từ 200 µL máu toàn phần bằng cách sử dụng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Trạng thái alen tại FV G1691 A locus được xác định bằng cách sử dụng Bộ dụng cụ Phát hiện Đột biến LightCycler Factor V Leiden (Tập đoàn Roche).

**Bảng 4. Định kiểu gen yếu tố V Leiden (Factor V Leiden, FV) sử dụng phân tích PCR điểm cuối và Pyrosequencing® với PSQ-96 SNP-Reagent Kit trên Pyrosequencing PSQ 96MA**

Kiểu gen	Số lượng
Kiểu tự nhiên	17
FV G16191 A thể dị hợp tử	13
FV G16191 A thể đồng hợp tử	0

Máu toàn phần được thu thập từ 30 người hiến riêng lẻ và DNA bộ gen được lọc từ 200 µL máu toàn phần bằng cách sử dụng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Trạng thái alen tại FV G1691 A locus được xác định bằng cách sử dụng phân tích PCR điểm cuối và Pyrosequencing với PSQ-96 SNP-Reagent Kit trên Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

**Bảng 5. Định kiểu gen prothrombin (PT) bằng cách sử dụng phân tích PCR điểm cuối và Pyrosequencing với PSQ-Q96 SNP Reagent Kit trên Pyrosequencing PSQ 96MA**

Kiểu gen	Số lượng
Kiểu tự nhiên	30
PT G20210A thể dị hợp tử	0
PT G20210A thể đồng hợp tử	0

Máu toàn phần được thu thập từ 30 người hiến riêng lẻ và DNA bộ gen được lọc từ 200 µL máu toàn phần bằng cách sử dụng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Trạng thái alen tại PT G20210A locus được xác định bằng cách sử dụng phân tích PCR điểm cuối và Pyrosequencing với PSQ-96 SNP Reagent Kit trên Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

**Bảng 6. Phân tích Đa hình ApoE T112C và C158T bằng cách sử dụng PCR điểm cuối với giải trình tự của sản phẩm khuếch đại bằng BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit và tách trên ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer**

Kiểu gen	Số lượng
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Khác	0

Máu toàn phần được thu thập từ 10 người hiến riêng lẻ và DNA bộ gen được lọc từ 200  $\mu\text{L}$  máu toàn phần bằng cách sử dụng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Phân tích đa hình ApoE T112C và C158T được thực hiện bằng cách sử dụng PCR điểm cuối với giải trình tự của sản phẩm khuếch đại bằng BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit và Tách trên ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific hoặc các công ty con của họ).

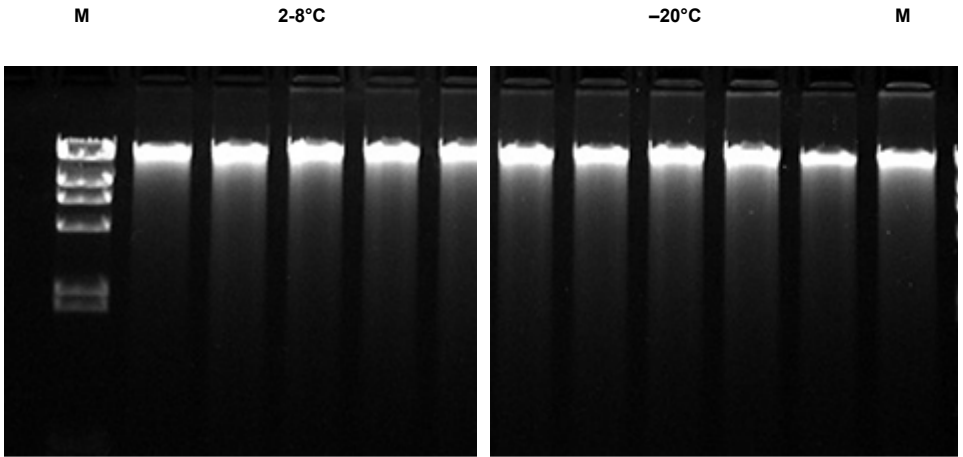
**Bảng 7. Ảnh hưởng của thể tích rửa giải và thể tích chất rửa giải được sử dụng trong PCR đến hiệu năng PCR**

Thể tích rửa giải	Thể tích chất rửa giải trên mỗi 50 $\mu\text{L}$ PCR*		
	2 $\mu\text{L}$	5 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$
50 $\mu\text{L}$	100%	100%	100%
100 $\mu\text{L}$	100%	100%	97%
200 $\mu\text{L}$	100%	100%	100%

\* Giá trị hiển thị tỷ suất đưng PCR và đại diện cho giá trị trung bình của 48 mẫu.

### Độ ổn định của chất rửa giải














Trong các xét nghiệm bảo quản với chất rửa giải được tạo ra bằng cách sử dụng QIAamp DNA Blood Mini Kit, một bộ dụng cụ dùng trong phòng thí nghiệm thông thường sử dụng công nghệ giống nhau cho thấy DNA được rửa giải từ các QIAamp Mini Spin Columns trong Buffer AE ổn định trong 8 năm khi được bảo quản ở 2 đến 8°C hoặc -30 đến -15°C (Hình 7). Tuy nhiên, các nghiên cứu dài hạn về độ ổn định của các chất rửa giải thu được bằng cách sử dụng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit đang được tiến hành.









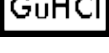
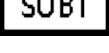





**Hình 7. Độ ổn định lâu dài của DNA được phân lập và lọc bằng cột quay QIAamp Mini.** DNA được lọc bằng cách sử dụng QIAamp DNA Blood Mini Kit, được rửa giải trong 200  $\mu$ L Buffer AE và được bảo quản ở 2-8°C hoặc -20°C trong 8 năm. Các mẫu DNA được phân tích trên gel agarose nhuộm ethidium-bromide. M: chất chỉ thị.

# Biểu tượng

Các biểu tượng sau đây có thể xuất trong các hướng dẫn sử dụng trên bao bì và nhãn dán:

Biểu tượng	Định nghĩa biểu tượng
	Chứa thuốc thử đủ cho <N> phản ứng
	Hạn sử dụng
	Thiết bị y tế chẩn đoán trong ống nghiệm
	Khi đến nơi
	Mở ra khi vận chuyển; bảo quản các cột quay QIAamp Mini ở 2-8°C
	Số catalog
	Số lô
	Số vật liệu (nghĩa là nhãn thành phần)
	Thành phần
	Bao gồm
	Số lượng
	Mã số Thương phẩm Toàn cầu
<b>Rn</b>	R là sửa đổi Hướng dẫn Sử dụng và n là số sửa đổi
	Giới hạn nhiệt độ

Biểu tượng	Định nghĩa biểu tượng
	Nhà sản xuất
	Tham khảo hướng dẫn sử dụng
	Thể tích
	Ghi lại ngày hiện tại sau khi thêm ethanol vào chai
	Thêm
	Đông khô
	Hoàn nguyên trong
	Ethanol
	Guanidine hydrochloride
	Subtilisin
	Dẫn đến
	Tham khảo hướng dẫn sử dụng
	Lưu ý quan trọng

# Thông tin Đặt hàng

Sản phẩm	Mục lục	Số catalog
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Cho 50 lần chuẩn bị DNA: Cột quay QIAamp Mini, VacConnectors, QIAGEN Protease, Thuốc thử, Chất đệm và ống thu gom	61104
Các sản phẩm liên quan		
QIAcube Connect MDx*	Dụng cụ và bảo hành 1 năm đối với các bộ phận và tay nghề	9003070
Phụ kiện		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	Ống góp chân không để xử lý 1-24 cột quay: Ống góp chân không QIAvac 24 Plus, Miếng bít Luer, Khớp nối nhanh	19413
Vacuum Pump†	Bơm chân không thông thường	84020
VacConnectors†	500 đầu nối dùng một lần để sử dụng với cột quay QIAamp trên đầu nối luer	19407
Rotor Adapters	Cho 240 lần chuẩn bị: 240 Bộ tiếp hợp Rôto Dùng một lần và 240 Ống rửa giải (1,5 ml); để sử dụng với QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Giá đỡ cho 12 bộ tiếp hợp rôto dùng một lần; để sử dụng với QIAcube	990392
Sample Tubes CB	1.000 ống có nắp vận hình nón không có đế viên (2 ml) để sử dụng với QIAcube và QIAcube Connect MDx	990382

Sản phẩm	Mục lục	Số catalog
Shaker Rack Plugs	Để nạp giá đỡ máy hấp lắc QIAcube	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Chai Thuốc thử (30 ml) có nắp; gói 6 chai; để sử dụng với QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Đầu tip bộ lọc dùng một lần, có giá đỡ; (8 x 128). Để sử dụng với QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Đầu tip bộ lọc dùng một lần, lỗ rộng, có giá đỡ; (8 x 128); không bắt buộc đối với tất cả các giao thức. Để sử dụng với QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Đầu tip bộ lọc dùng một lần, có giá đỡ; (8 x 128). Để sử dụng với các dụng cụ QIAcube và QIASymphony SP/AS	990332

\* QIAcube Connect MDx không có sẵn ở tất cả các quốc gia. Để biết thêm chi tiết vui lòng liên hệ với bộ phận dịch vụ kỹ thuật QIAGEN.

† Để sử dụng với các giao thức chân không.

Để biết thông tin cập nhật về cấp phép và tuyên bố từ bỏ trách nhiệm cụ thể theo sản phẩm, xem sổ tay hoặc hướng dẫn sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN tương ứng. Sổ tay và hướng dẫn sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN có sẵn tại [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) hoặc có thể được yêu cầu từ bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật của QIAGEN hoặc nhà phân phối tại địa phương của bạn.



# Lịch sử Sửa đổi Tài liệu

<b>Sửa đổi</b>	<b>Mô tả</b>
Bản sửa đổi 2, 01/2021	<p>Cập nhật các Phần Lọc tự động trên QIAcube/QIAcube Connect MDx, Cảnh báo và Thận trọng và Giao thức: Phân lập và lọc DNA bộ gen từ các mẫu máu bằng máy ly tâm nhỏ hoặc QIAcube/QIAcube.</p> <p>Đã thêm các tham chiếu đến QIAcube Connect MDx và các phụ kiện của nó.</p> <p>Đã xóa tham chiếu đến CD trong phần Thành phần bộ kit.</p> <p>Thay đổi về biên tập và bố cục.</p>

---

**Trang này được để trống có chủ ý.**

---

**Trang này được để trống có chủ ý.**

### Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế cho QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Việc sử dụng sản phẩm này biểu thị thỏa thuận của bất kỳ người mua hoặc người dùng sản phẩm nào với các điều khoản sau:

1. Sản phẩm chỉ có thể được sử dụng theo các giao thức được cung cấp kèm theo sản phẩm và số tay này và chỉ được sử dụng với các thành phần có trong bảng. QIAGEN không cấp giấy phép theo bất kỳ tài sản trí tuệ nào để sử dụng hoặc kết hợp các thành phần kèm theo của bảng này với bất kỳ thành phần nào không có trong bảng này trừ khi được mô tả trong các giao thức được cung cấp cùng với sản phẩm, số tay này và các giao thức bổ sung có sẵn tại [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Một số giao thức bổ sung này đã được người dùng QIAGEN cung cấp cho người dùng QIAGEN. Các giao thức này chưa được QIAGEN kiểm tra kỹ lưỡng hoặc tối ưu hóa. QIAGEN không bảo hành chúng cũng không đảm bảo rằng chúng không vi phạm các quyền của bên thứ ba.
2. Ngoài các giấy phép được nêu rõ ràng, QIAGEN không bảo đảm rằng bảng này và/hoặc (các) công dụng của bảng không vi phạm các quyền của bên thứ ba.
3. Bảng này và các thành phần của bảng được cấp phép sử dụng một lần và không được tái sử dụng, tân trang hoặc bán lại.
4. QIAGEN đặc biệt từ chối bất kỳ giấy phép nào khác, được thể hiện rõ ràng hoặc ngụ ý ngoài những giấy phép được nêu.
5. Người mua và người dùng bảng này đồng ý không thực hiện hoặc cho phép bất kỳ ai khác thực hiện các bước có thể dẫn đến hoặc tạo điều kiện cho bất kỳ hành vi nào bị cấm ở trên. QIAGEN có thể thực thi các lệnh cấm của Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế này tại bất kỳ Tòa án nào và sẽ thu hồi tất cả các chi phí điều tra và Tòa án, bao gồm phí luật sư, trong bất kỳ hành động nào để thực thi Thỏa thuận Cấp phép Giới hạn này hoặc bất kỳ quyền sở hữu trí tuệ nào liên quan đến bảng và/hoặc các thành phần của bảng.

Để biết các điều khoản cấp phép được cập nhật, hãy truy cập [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Thương hiệu: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (Tập đoàn QIAGEN); BD®, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette®, Greiner Bio-One® (Greiner Bio-One GmbH); Eppendorf®, Thermomixer® (Eppendorf AG); LightCycler® (Tập đoàn Roche); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.); ABI PRISM®, *A/SeT*™, BigDye®, Dynal® (Thermo Fisher Scientific hoặc các công ty con của họ). Các tên, thương hiệu, v.v. đã đăng ký được sử dụng trong tài liệu này, kể cả khi không được đánh dấu cụ thể như vậy được coi là được bảo vệ về pháp lý.

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, tất cả quyền được bảo lưu.

---

Đặt hàng [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Hỗ trợ kỹ thuật [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Trang web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)