

Ιανουάριος 2021

Οδηγίες χρήσης QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit (Εγχειρίδιο)



50

Έκδοση 2

IVD

Για in vitro διαγνωστική χρήση

CE

REF

61104



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

Αναθ. 2 **MAT**

1122788EL



Περιεχόμενα

Προβλεπόμενη χρήση	5
Περιγραφή και αρχή λειτουργίας.....	6
Λύση κυττάρων του αίματος.....	6
Δέσμευση γονιδιωματικού DNA στη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini	6
Αυτόματος καθαρισμός σε QIAcube/QIAcube Connect MDx	7
Σύνοψη και επεξήγηση.....	11
Υλικά που παρέχονται	12
Περιεχόμενα του κιτ.....	12
Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται	13
Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις.....	15
Πληροφορίες ασφάλειας.....	15
Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων	17
Αποθήκευση και χειρισμός των δοκιμών	17
Αφαίρεση υπολειμμάτων ουσιών επιμόλυνσης	19
Έκλουση καθαρού γονιδιωματικού DNA	19
Σημαντικές σημειώσεις	19
Σημαντικές υποδείξεις πριν από την έναρξη ενός πρωτοκόλλου	19
Προετοιμασία αντιδραστηρίων και ρυθμιστικών διαλυμάτων	20
Χειρισμός των στηλών διαχωρισμού QIAamp Mini	22
Έκλουση γονιδιωματικού DNA	22
Απόδοση και ποιότητα του γονιδιωματικού DNA	23

Ρύθμιση του συστήματος κενού QIAvac 24 Plus.....	23
Διαδικασία	25
Πρωτόκολλο: Απομόνωση και καθαρισμός γονιδιωματικού DNA από δείγματα αίματος με χρήση συστήματος κενού	25
Πρωτόκολλο: Απομόνωση και καθαρισμός γονιδιωματικού DNA από δείγματα αίματος με τη χρήση μικροφυγόκεντρου ή QIAcube/QIAcube Connect MDx	30
Έλεγχος ποιότητας	34
Περιορισμοί	34
Χαρακτηριστικά απόδοσης	35
Σύμβολα	40
Πληροφορίες παραγγελιών.....	42
Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου	44

Προβλεπόμενη χρήση

Το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit είναι ένα σύστημα που χρησιμοποιεί τεχνολογία μεμβράνης διοξειδίου του πυριτίου (τεχνολογία QIAamp) για την απομόνωση και τον καθαρισμό γονιδιωματικού DNA από βιολογικά δείγματα.

Το προϊόν προορίζεται για χρήση από επαγγελματίες, όπως τεχνολόγους και ιατρούς που έχουν εκπαιδευθεί σε τεχνικές μοριακής βιολογίας.

Το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση.

Περιγραφή και αρχή λειτουργίας

Κάθε διαδικασία στο QIAamp DSP DNA Blood Mini αποτελείται από 4 βήματα:

- Λύση των κυττάρων στο δείγμα αίματος
- Δέσμευση του γονιδιωματικού DNA του κυτταρολύματος στη μεμβράνη μιας στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini
- Πλύση της μεμβράνης
- Έκλυση του γονιδιωματικού DNA από τη μεμβράνη

Αυτό το εγχειρίδιο περιέχει πρωτόκολλα για 2 εναλλακτικές διαδικασίες στο QIAamp DSP DNA Blood Mini: τη διαδικασία διαχωρισμού, για την οποία απαιτείται μια φυγόκεντρος, και τη διαδικασία επεξεργασίας εν κενώ, για την οποία απαιτείται μια φυγόκεντρος και ένα σύστημα κενού (βλ. διάγραμμα ροής εργασιών, σελίδα 10). Η διαδικασία φυγοκέντρωσης μπορεί αυτοματοποιηθεί στο QIAcube και στο QIAcube Connect MDx.

Λύση κυττάρων του αίματος

Τα δείγματα λύνονται υπό μετουσιωτικές συνθήκες σε υψηλές θερμοκρασίες. Η λύση πραγματοποιείται παρουσία QIAGEN Protease (QP) και ρυθμιστικού διαλύματος λύσης (AL).

Δέσμευση γονιδιωματικού DNA στη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini

Για βελτιστοποίηση της δέσμευσης γονιδιωματικού DNA στη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini, στα προϊόντα λύσης προστίθεται αρχικά αιθανόλη. Στη συνέχεια, κάθε προϊόν λύσης τοποθετείται σε στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini και το γονιδιωματικό DNA προσροφάται στη μεμβράνη πυριτίου καθώς το προϊόν λύσης αναρροφάται με πίεση κενού ή με φυγόκεντρο δύναμη.

Αυτόματος καθαρισμός σε QIAcube/QIAcube Connect MDx

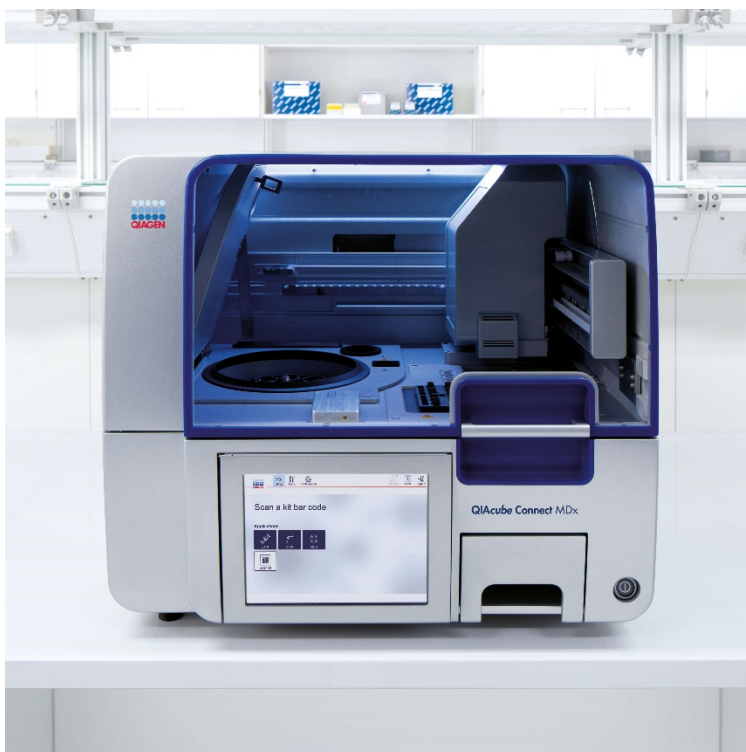
Το QIAcube και το QIAcube Connect MDx προορίζονται για την εκτέλεση αυτοματοποιημένης απομόνωσης και καθαρισμού νουκλεϊκών οξέων. Μπορούν να υποβληθούν σε επεξεργασία έως και 12 δείγματα ανά εκτέλεση.

Κατά την προετοιμασία δειγμάτων με χρήση του QIAcube και του QIAcube Connect MDx ακολουθούνται τα ίδια βήματα όπως και στη χειροκίνητη διαδικασία (δηλ. λύση, δέσμευση, πλύση και έκλουση). Έτσι σας παρέχεται η δυνατότητα να συνεχίσετε να χρησιμοποιείτε το QIAamp DSP DNA Mini Kit για καθαρισμό DNA υψηλής ποιότητας.

Σε περίπτωση αυτοματοποιημένης λειτουργίας του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit στα όργανα QIAcube ή QIAcube Connect MDx, τα τελευταία ενδέχεται να επεξεργάζονται λιγότερα από 50 δείγματα λόγω νεκρών όγκων, εξάτμισης και αυξημένης κατανάλωσης αντιδραστηρίων εξαιτίας της αυτοματοποίησης της διαδικασίας διανομής με πιπέτα. Η QIAGEN εγγυάται την προετοιμασία μόνο 50 δειγμάτων με τη χειροκίνητη χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

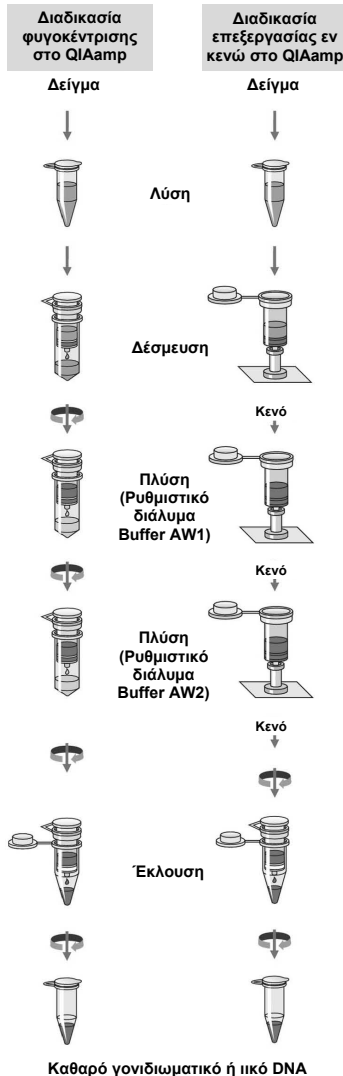


Εικόνα 1. Το QIAcube.



Εικόνα 2. Το QIAcube Connect MDx.

Διαδικασίες φυγοκέντρησης και επεξεργασίας εν κενώ με το QIAamp DSP DNA Blood Mini



Διαβάστε προσεκτικά τα πρωτόκολλα (σελίδες 25 και 30) πριν ξεκινήσετε.

Στο LT, προσθέστε 20 μl QP, 200 μl δείγματος και 200 μl AL. Στροβιλίστε σε αναδευτήρα τύπου vortex για 15 s. Επώαστε για 10 min (±1 min) στους 56 °C (±1 °C). Προσθέστε 200 μl αιθανόλης. Στροβιλίστε σε αναδευτήρα τύπου vortex για 15 s.

Μεταφέρετε το κυτταρόλυμα στη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini.

Διαδικασία διαχωρισμού: Φυγοκεντρίστε για 1 min σε 6.000 x g.

Διαδικασία επεξεργασίας εν κενώ: Εφαρμόστε κενό.

Διαδικασία διαχωρισμού: Τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini σε ένα νέο WT, προσθέστε 500 μl AW1, και φυγοκεντρίστε για 1 min σε 6.000 x g.

Διαδικασία επεξεργασίας εν κενώ: Προσθέστε 750 μl AW1, και εφαρμόστε κενό.

Διαδικασία διαχωρισμού: τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini σε ένα νέο WT, προσθέστε 500 μl AW2, και φυγοκεντρίστε για 1 min στη μέγιστη ταχύτητα (περίπου 20.000 x g ή 14.000 rpm).

Διαδικασία επεξεργασίας εν κενώ: Προσθέστε 750 μl AW2, και εφαρμόστε κενό.

Τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini στο WT.

Φυγοκεντρίστε για 3 min στη μέγιστη ταχύτητα (περίπου 20.000 x g ή 14.000 rpm).

Τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini στο ET.

Προσθέστε 50–200 μl AE, και επώαστε για 1 min.

Φυγοκεντρίστε για 1 min σε 6.000 x g.

Σύνοψη και επεξήγηση

Το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit χρησιμοποιεί ευρέως καθιερωμένη τεχνολογία για γρήγορη και εύκολη απομόνωση και καθαρισμό γονιδιωματικού DNA από 200 μl ολικού αίματος.




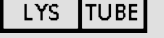








Οι διαδικασίες του QIAamp DSP DNA Blood Mini, οι οποίες έχουν σχεδιαστεί για ταυτόχρονη επεξεργασία πολλών δειγμάτων αίματος, αποδίδουν καθαρισμένο DNA έτοιμο για χρήση. Οι διαδικασίες είναι κατάλληλες για χρήση με φρέσκο ή κατεψυγμένο ολικό αίμα και αίμα που έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με κιτρικό ή EDTA.

Οι απλές διαδικασίες διαχωρισμού και επεξεργασίας εν κενώ του QIAamp DSP είναι κατάλληλες για την ταυτόχρονη επεξεργασία πολλών δειγμάτων. Ορισμένες από τις διαδικασίες διαχωρισμού του QIAamp μπορούν να αυτοματοποιηθούν πλήρως στο QIAcube ή στο QIAcube Connect MDx για μεγαλύτερη τυποποίηση και ευκολία χρήσης (σελίδα 7).

Δεν απαιτείται προηγούμενος διαχωρισμός των λευκοκυττάρων. Οι διαδικασίες δεν απαιτούν ούτε εκχύλιση με φαινόλη/χλωροφόρμιο ούτε καθίζηση με αιθανόλη, ενώ απαιτείται ελάχιστη αλληλεπίδραση με τον χρήστη, γεγονός που επιτρέπει τον ασφαλή χειρισμό πιθανώς μολυσματικών δειγμάτων. Οι διαδικασίες έχουν σχεδιαστεί για την ελαχιστοποίηση της διασταυρούμενης μόλυνσης από δείγμα σε δείγμα. Το καθαρισμένο DNA είναι έτοιμο για χρήση σε PCR ή σε άλλες εφαρμογές ή, εναλλακτικά, μπορεί να φυλαχτεί σε θερμοκρασία από $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ έως $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ για μεταγενέστερη χρήση.

Υλικά που παρέχονται

Περιεχόμενα του ΚΙΤ

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit		
Αρ. καταλόγου		61104
Αριθμός παρασκευών		50*
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (Στήλες διαχωρισμού QIAamp Mini Spin Columns με σωληνάρια πλύσης) (WT) (2 ml)	 50
ET	Elution Tubes (Σωληνάρια έκλουσης) (1,5 ml)	 50
VC	VacConnectors	 50
LT	Lysis Tubes (Σωληνάρια λύσης) (1,5 ml)	 50
WT	Wash Tubes (Σωληνάρια πλύσης) (2 ml)	 3 x 50
AL	Lysis Buffer (Ρυθμιστικό διάλυμα λύσης) [†]	 12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1) [†] (συμπυκνωμένο διάλυμα)	 19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 2) [†] (συμπυκνωμένο διάλυμα)	 13 ml
AE	Elution Buffer (Ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης) [†]	 25 ml
PS	Protease Solvent (Διαλύτης πρωτεάσης) [‡]	 2 ml
QP	QIAGEN Protease [§]	 1 φιαλίδιο
-	Οδηγίες χρήσης (Εγχειρίδιο)	 1

* Σε περίπτωση αυτοματοποίησης των διαδικασιών του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit στο όργανο QIAcube ή QIAcube Connect MDx, το όργανο ενδέχεται να επεξεργάζεται λιγότερα από 50 δείγματα λόγω νεκρών όγκων, εξάτμισης και αυξημένης κατανάλωσης αντιδραστηρίων εξαιτίας της αυτοματοποίησης της διαδικασίας διανομής με πιπέτα. Η QIAGEN εγγυάται την προετοιμασία μόνο 50 δειγμάτων με τη χειροκίνητη χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

[†] Περιέχει υδροχλωρική γουανιδίνη. Μη συμβατό με απολυμαντικά που περιέχουν χλώριο. Για περισσότερες πληροφορίες, βλ. ενότητα «Πληροφορίες ασφάλειας» στη σελίδα 14.

[‡] Περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

[§] Όγκος επαναιώρησης 1,2 ml. Βλ. «Προετοιμασία αντιδραστηρίων και ρυθμιστικών διαλυμάτων» στη σελίδα 19.

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Κατά την εργασία με χημικές ουσίες, φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheet, SDS), τα οποία διατίθενται από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Για τις διαδικασίες διαχωρισμού και επεξεργασίας εν κενώ

- Αιθανόλη (96–100%)
- Πιπέτες* και ρύγχη πιπέτων (για την αποφυγή διασταυρούμενης μόλυνσης, συνιστούμε ιδιαίτερα τη χρήση ρυγχών πιπέτας με φραγμό αερολύματος)
- Γάντια μίας χρήσης
- Θερμικό μπλοκ* για τη λύση δειγμάτων στους 56 °C (συνιστούμε το Eppendorf® Thermomixer® comfort με θερμοστοιχείο για δοκιμαστικά μικροσωληνάρια 1,5 ml†)
- Μικροφυγόκεντρος*
- Ογκομετρικός κύλινδρος (50 ml)
- Αναδευτήρας

Μόνο για τη διαδικασία επεξεργασίας εν κενώ

- Σύστημα κενού QIAvac 24 Plus (αρ. κατ. 19413) ή αντίστοιχο
- VacConnectors (αρ. κατ. 19407)
- VacValves (αρ. κατ. 19408)
- QIAvac Connecting System (αρ. κατ. 19419)
- Vacuum Pump (αρ. κατ. 84020)
- Vacuum Regulator (αρ. κατ. 19530)

* Για τη διασφάλιση της ορθής επεξεργασίας των δειγμάτων στις διαδικασίες του QIAamp DSP DNA Blood Mini, συνιστούμε ιδιαίτερα τη βαθμονόμηση των οργάνων (π.χ. πιπέτες και θερμικά μπλοκ) σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

† Αυτό δεν αποτελεί πλήρη κατάλογο των προμηθευτών και δεν περιλαμβάνει πολλούς σημαντικούς προμηθευτές βιολογικών προμηθειών.

Μόνο για την αυτοματοποιημένη διαδικασία

- Rotor Adapters, αρ. κατ. 990394
- Rotor Adapter Holder, αρ. κατ. 990392
- Sample Tubes CB, αρ. κατ. 990382 (σωληνάριο εισαγωγής δείγματος)
- Shaker Rack Plugs, αρ. κατ. 9017854
- Reagent Bottles, 30 ml, αρ. κατ. 990393
- Filter Tips, 1000 µl, αρ. κατ. 990352
- Filter Tips, 200 µl, αρ. κατ. 990332
- SafeSeal Tube, 1,5 ml, Sarstedt® (αρ. κατ. 72.706)

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Λάβετε υπόψη σας ότι ενδέχεται να χρειαστεί να αναφέρετε στον κατασκευαστή και στη ρυθμιστική αρχή σοβαρότερα συμβάντα που σχετίζονται με τη συσκευή, στα οποία υπάγεται ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

Πληροφορίες ασφάλειας

Κατά την εργασία με χημικές ουσίες, φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (SDS). Διατίθενται στο διαδίκτυο σε εύχρηστη και συμπιεσμένη μορφή PDF, στην ιστοσελίδα www.qiagen.com/safety, όπου μπορείτε να βρείτε, να εμφανίσετε και να εκτυπώσετε τα SDS για όλα τα κιτ της QIAGEN καθώς και για τα συστατικά τους.



ΠΡΟΣΟΧΗ: ΜΗΝ προσθέτετε χλωριούχα ή όξινα διαλύματα απευθείας στα απόβλητα παρασκευής-δειγμάτων.

Το ρυθμιστικό διάλυμα λύσης (AL) και ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1 (AW1) περιέχουν υδροχλωρική γουανιδίνη, η οποία μπορεί να σχηματίσει εξαιρετικά δραστικές ενώσεις όταν συνδυαστεί με χλώριο. Εάν χυθεί υγρό που περιέχει αυτά τα ρυθμιστικά διαλύματα, καθαρίστε με κατάλληλο απορρυπαντικό εργαστηρίου και νερό. Εάν το υγρό που χύθηκε περιέχει δυνητικά μολυσματικούς παράγοντες, καθαρίστε αρχικά την περιοχή που λερώθηκε με απορρυπαντικό εργαστηρίου και νερό και κατόπιν με υποχλωριώδες νάτριο συγκέντρωσης 1% (v/v). Εάν οι φιάλες των ρυθμιστικών διαλυμάτων έχουν υποστεί ζημιά ή παρουσιάζουν διαρροή, φορέστε γάντια και προστατευτικά γυαλιά κατά την απόρριψη των φιαλιδίων, έτσι ώστε να αποφεύγετε σωματική βλάβη σε εσάς ή άλλους.

Η QIAGEN δεν έχει ελέγξει τα υγρά απόβλητα που παράγουν οι διαδικασίες του QIAamp DSP DNA Blood Mini ως προς υπολειμματικά μολυσματικά υλικά. Η επιμόλυνση των υγρών αποβλήτων με υπολειμματικά μολυσματικά υλικά είναι απίθανη, αλλά δεν μπορεί να αποκλειστεί τελείως. Για το λόγο αυτό, τα υγρά απόβλητα θα πρέπει να θεωρούνται μολυσματικά. Για το χειρισμό και την απόρριψή τους θα πρέπει να τηρούνται οι τοπικοί κανονισμοί ασφαλείας.

Για τα συστατικά του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ισχύουν οι ακόλουθες φράσεις κινδύνου και ασφάλειας.

Ρυθμιστικό διάλυμα λύσης (AL) και ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1 (AW1)



Περιέχει: υδροχλωρική γουανιδίνη. Προειδοποίηση! Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης ή εισπνοής. Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρό ερεθισμό των ματιών. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

QIAGEN Protease (QP)



Περιέχει: σουμπτιλίσίνη. Κίνδυνος! Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρή βλάβη στα μάτια. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργία ή συμπτώματα άσθματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής. Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού. Αποφεύγετε να αναπνέετε σκόνη/ αναθυμιάσεις/ αέρια/ σταγονίδια/ ατμούς/ εκνεφώματα. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο. Να φοράτε μέσα ατομικής προστασίας της αναπνοής. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανής έκθεσης: Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό. Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή.

Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων

Οι στήλες διαχωρισμού QIAamp Mini πρέπει να φυλάσσονται στους 2–8 °C κατά την παραλαβή και μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο κουτί του κιτ.

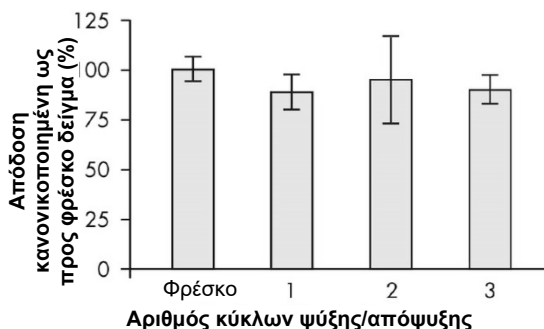
Όλα τα ρυθμιστικά διαλύματα μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο κουτί του κιτ.

Η λυοφιλοποιημένη QIAGEN Protease (QP) μπορεί να φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) έως την ημερομηνία λήξης του κιτ, χωρίς έκπτωση της απόδοσής της. Η ανασυσταμένη QIAGEN Protease είναι σταθερή για έως 1 έτος όταν φυλάσσεται στους 2–8 °C, αλλά μόνο έως την ημερομηνία λήξης του κιτ.

Το ανασυσταμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1 (AW1) και το ανασυσταμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 2 (AW2) είναι σταθερά για έως 1 έτος, όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C), αλλά μόνο έως την ημερομηνία λήξης του κιτ.

Αποθήκευση και χειρισμός των δοκιμίων

Τα κρουιζήματα που δημιουργούνται κατά την απόψυξη των κατεψυγμένων δειγμάτων αποφράσσουν τη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini. Εάν υπάρχουν ορατά κρουιζήματα, μην τα αναρροφάτε κατά την αναρρόφηση του δείγματος. Η επίδραση της ψύξης και απόψυξης των δειγμάτων αίματος κατά τον καθαρισμό του DNA με χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit έχει τεκμηριωθεί (βλ. Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Επίδραση της ψύξης και της απόψυξης δειγμάτων αίματος. Αίμα που είχε υποβληθεί σε επεξεργασία με EDTA ψύχθηκε και αποψύχθηκε έως και 3 φορές και, στη συνέχεια, υπεβλήθη σε καθαρισμό DNA με χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Οι εκτιμώμενες αποδόσεις DNA κανονικοποιούνται ως προς την απόδοση από φρέσκο δείγμα (100%). Κάθε γραμμή στο γράφημα αναπαριστά τα αποτελέσματα από 32 αντίγραφα (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).

Η ποσότητα DNA που καθαρίζεται στις διαδικασίες του QIAamp DSP DNA Blood Mini εξαρτάται από το περιεχόμενο λευκοκυττάρων σε κάθε δείγμα αίματος. Με χρήση της διαδικασίας φυγοκέντρισης ή επεξεργασίας εν κενώ, γονιδιωματικό DNA καθαρίζεται από 200 μl δειγμάτων αίματος από υγιείς δότες. Για τη συλλογή δειγμάτων αίματος για τις διαδικασίες QIAamp DSP DNA Blood Mini μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικά κύρια σωληνάρια και αντιπηκτικά (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Μέσες σχετικές τιμές απόδοσης DNA από δείγματα αίματος που συλλέχθηκαν με τη χρήση διαφόρων κύριων σωληναρίων και αντιπηκτικών

Κύριο σωληνάριο	Κατασκευαστής	Αρ. κατ.	Ονομαστικός όγκος	Μέση τιμή απόδοσης*
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

Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 μl δειγμάτων αίματος από υγιείς δότες (4,0 έως 9,0 x 10⁶ κύτταρα ανά ml).

* Για κάθε κύριο σωληνάριο, η μέση τιμή απόδοσης προσδιορίζεται από 11 εις τριπλούν δείγματα.

Αφαίρεση υπολειμμάτων ουσιών επιμόλυνσης

Ενώ τα υπολείμματα του γονιδιωματικού DNA παραμένουν δεσμευμένα στη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini Spin Column, πραγματοποιείται αποτελεσματική έκπλυση των επιμολυντών με τη χρήση αρχικά ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 1 (AW1) και, στη συνέχεια, ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 2 (AW2).

Έκλυση καθαρού γονιδιωματικού DNA

Γίνεται έκλυση του γονιδιωματικού DNA από τη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini Spin Column με χρήση 50–200 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκλυσης (AE). Το εκλουσμένο DNA είναι έτοιμο για χρήση σε διαφορετικούς προσδιορισμούς καθοδικής ροής, συμπεριλαμβανομένης μιας ποικιλίας in vitro διαγνωστικών προσδιορισμών καθοδικής ροής.

Σημαντικές σημειώσεις

Σημαντικές υποδείξεις πριν από την έναρξη ενός πρωτοκόλλου

- Αφού παραλάβετε το κιτ, ελέγξτε τα συστατικά μέρη του κιτ για ζημιές. Εάν οι συσκευασίες κυψέλης ή οι φιάλες ρυθμιστικού διαλύματος έχουν υποστεί ζημιά, επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης της QIAGEN ή με τον τοπικό σας διανομέα. Σε περίπτωση διαρροής υγρών, ανατρέξτε στην ενότητα «Πληροφορίες ασφάλειας» (σελίδα 15). Μην χρησιμοποιείτε κατεστραμμένα συστατικά μέρη του κιτ, διότι η χρήση τους μπορεί να οδηγήσει σε κακή απόδοση του κιτ.
- Αλλάζετε πάντα τα ρύγχη πιπέτων μετά από κάθε μεταφορά υγρού. Για να ελαχιστοποιήσετε τη διασταυρούμενη μόλυνση, συνιστούμε τη χρήση ρυγχών πιπέτας με φραγμό αερολύματος.
- Όλα τα βήματα φυγοκέντρησης θα πρέπει να εκτελούνται σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C).

- Πάντοτε να χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και να ελέγχετε τακτικά ότι δεν έχουν επιμολυνθεί με υλικό δείγματος. Απορρίπτετε τα γάντια σε περίπτωση μόλυνσης.
- Για να ελαχιστοποιήσετε τις πιθανότητες διασταυρούμενης μόλυνσης, ανοίγετε μόνο ένα σωληνάριο κάθε φορά.
- Μην χρησιμοποιείτε συστατικά κιτ από άλλα κιτ μαζί με το κιτ που χρησιμοποιείτε τη δεδομένη στιγμή, εκτός εάν οι αριθμοί παρτίδας είναι οι ίδιοι.
- Αποφύγετε τη μικροβιακή επιμόλυνση των αντιδραστηρίων του κιτ.
- Για να ελαχιστοποιήσετε τον κίνδυνο μόλυνσης από δυνητικά μολυσματικό υλικό, συνιστούμε την εργασία υπό συνθήκες νηματικής ροής αέρα μέχρι τη λύση των δειγμάτων.
- Αυτό το κιτ πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από προσωπικό εκπαιδευμένο στη διαγνωστική εργαστηριακή πρακτική *in vitro*.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων και ρυθμιστικών διαλυμάτων

- Προετοιμασία της πρωτεάσης QIAGEN Protease

Προσθέστε 1,2 ml διαλύτη πρωτεάσης (PS) στο φιαλίδιο της λυοφιλοποιημένης QIAGEN Protease (QP) και αναμείξτε προσεκτικά. Για να αποφύγετε τον αφρισμό, αναδεύστε αναποδογυρίζοντας αρκετές φορές το φιαλίδιο. Βεβαιωθείτε πως η QIAGEN Protease (QP) έχει διαλυθεί πλήρως.

Σημαντικό: Μην προσθέτετε QIAGEN Protease (QP) απευθείας στο ρυθμιστικό διάλυμα λύσης (AL).

- Προετοιμασία ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 1

Χρησιμοποιώντας έναν ογκομετρικό κύλινδρο, προσθέστε 25 ml αιθανόλης (96–100%) στη φιάλη που περιέχει 19 ml συμπυκνωμένου ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 1 (AW1). Φυλάσσετε το ανασυσταμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1 (AW1) σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C).

Σημαντικό: Αναμειγνύετε πάντα το ανασυσταμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1 (AW1) αναστρέφοντας τη φιάλη αρκετές φορές πριν από την έναρξη της διαδικασίας.

- Προετοιμασία ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 2

Χρησιμοποιώντας έναν ογκομετρικό κύλινδρο, προσθέστε 30 ml αιθανόλης (96–100%) στη φιάλη που περιέχει 13 ml συμπυκνωμένου ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 2 (AW2). Φυλάσσετε το ανασυσταμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 2 (AW2) σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C).

Σημαντικό: Αναμειγνύετε πάντα το ανασυσταμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 2 (AW2) αναστρέφοντας τη φιάλη αρκετές φορές πριν από την έναρξη της διαδικασίας.

- Προετοιμασία ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης

Με το kit παρέχεται μία φιάλη ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης (AE). Για την αποτροπή μόλυνσης του ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης (AE), συνιστούμε ιδιαίτερα τη χρήση ρυγχών πιπέτας με φραγμό αερολυμάτων κατά την αναρρόφηση του ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης (AE) από τη φιάλη και την επανατοποθέτηση του πώματος της φιάλης αμέσως μετά.

Σημαντικό: Το ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης (AE) περιέχει ως συντηρητικό αζίδιο του νατρίου, το οποίο παρουσιάζει απορρόφηση στα 260 nm. Συνεπώς, κατά την ποσοτικοποίηση του DNA στο έκλουσμα μέσω μέτρησης της απορρόφησης στα 260 nm, κατά τον προσδιορισμό της καθαρότητας του DNA στο έκλουσμα μέσω μέτρησης της απορρόφησης στα 260 nm και στα 280 nm ή κατά τη σάρωση της απορρόφησης σε εύρος από 220 nm έως 350 nm, πρέπει να διασφαλίζετε ότι το τυφλό δείγμα περιέχει την ίδια συγκέντρωση αζιδίου του νατρίου με το έκλουσμα. Για παράδειγμα, εάν προετοιμάζετε έκλουσμα για μετρήσεις απορρόφησης με αραιώση 50 μl εκλούσματος με 100 μl νερό, πρέπει να προετοιμάζετε το τυφλό δείγμα αραιώνοντας 50 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης (AE) με 100 μl νερό. Χρησιμοποιείτε για τις αραιώσεις φρέσκο, αποσταγμένο νερό.

Χειρισμός των στηλών διαχωρισμού QIAamp Mini

Λόγω της ευαισθησίας των τεχνολογιών ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων, είναι αναγκαίες οι ακόλουθες προφυλάξεις κατά το χειρισμό των στηλών διαχωρισμού QIAamp Mini, ώστε να αποφευχθεί η διασταυρούμενη επιμόλυνση μεταξύ προετοιμασιών δειγμάτων:

- Προσθέστε προσεκτικά το δείγμα ή το διάλυμα στη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini. Προσθέστε με πιπέτα το δείγμα στη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini χωρίς να βρέξετε το χείλος της στήλης.
- Αλλάζετε πάντα τα ρύγχη πιπέτων μετά από κάθε μεταφορά υγρού. Συνιστούμε τη χρήση ρυγχών πιπέτας με φραγμό αερολύματος.
- Αποφεύγετε να αγγίζετε τη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini με το ρύγχος της πιπέτας.
- Μετά από όλα τα βήματα παλμικής ανάδευσης, φυγοκεντρίστε σύντομα τα σωληνάρια μικροφυγόκεντρου για να απομακρύνετε τα σταγονίδια από την εσωτερική πλευρά των καλυμμάτων.
- Ανοίγετε μόνο μία στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini κάθε φορά και φροντίστε να μην δημιουργούνται αερολύματα.
- Φοράτε γάντια σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Αντικαταστήστε αμέσως τα γάντια, εάν έλθουν σε επαφή με το δείγμα.

Έκλυση γονιδιωματικού DNA

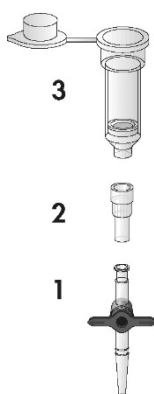
Ο όγκος του DNA που έχει εκλουστεί από μια στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini μπορεί να είναι έως και 20 μl μικρότερος από τον όγκο του ρυθμιστικού διαλύματος έκλυσης (AE) που τοποθετείται στη στήλη. Ο όγκος του ανακτηθέντος εκλούσματος εξαρτάται από τη φύση του δείγματος. Το ρυθμιστικό διάλυμα έκλυσης (AE) θα πρέπει να αποκτά θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) προτού τοποθετηθεί στη στήλη. Το εκλουσμένο DNA συλλέγεται σε σωληνάρια έκλυσης (ET). Εάν το DNA φυλάσσεται για έως και 4 εβδομάδες, συνιστούμε η φύλαξη να γίνεται στους 2–8 °C. Για μακροχρόνια φύλαξη, συνιστούμε φύλαξη στους –30 έως –15 °C.

Απόδοση και ποιότητα του γονιδιωματικού DNA

Η απόδοση και η ποιότητα του απομονωμένου γονιδιωματικού DNA είναι κατάλληλες για πολλούς τύπους καθοδικών διαδικασιών ανίχνευσης στη μοριακή διαγνωστική. Οι διαγνωστικοί προσδιορισμοί πρέπει να διενεργούνται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Ρύθμιση του συστήματος κενού QIAvac 24 Plus

Βεβαιωθείτε ότι έχετε ρυθμίσει σωστά τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini, το VacConnector (VC) και το VacValve (βλ. Εικόνα 4).



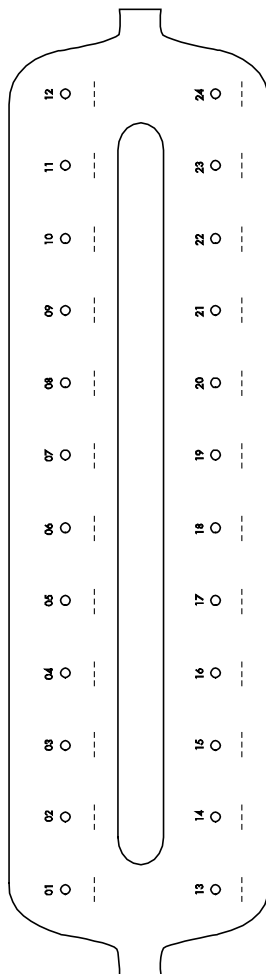
Εικόνα 4. Συναρμολόγηση των συστατικών μερών του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit για την επεξεργασία δειγμάτων εν κενώ. (1) VacValve (2) VacConnector (VC) (3) Στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini

Εάν χρησιμοποιείτε τη διαδικασία επεξεργασίας εν κενώ με το σύστημα κενού QIAvac 24 Plus, συνιστούμε να επισημάνετε τα σωληνάρια λύσης (LT), τα σωληνάρια έκλουσης (ET), και τις στήλες διαχωρισμού QIAamp Mini σύμφωνα με το σχέδιο που φαίνεται στην Εικόνα 5 (βλ. επόμενη σελίδα) για την αποφυγή σύγχυσης των δειγμάτων. Μπορείτε να φωτοτυπήσετε αυτήν την εικόνα και να την επισημάνετε με τα ονόματα των δειγμάτων. Σε περίπτωση χρήσης άλλων συστημάτων κενού ή σε περίπτωση χρήσης της διαδικασίας φυγοκέντρησης, συνιστούμε τη χρήση ενός παρόμοιου υποδείγματος.

Ημερομηνία: _____

Χειριστής: _____

Αναγνωριστικό εκτέλεσης: _____



Εικόνα 5. Υπόδειγμα επισήμανσης σωληναρίων λύσης (LT), σωληναρίων έκλουσης (ET) και στηλών διαχωρισμού QIAamp Mini για χρήση στο σύστημα κενού QIAvac 24 Plus.

Διαδικασία

Πρωτόκολλο: Απομόνωση και καθαρισμός γονιδιωματικού DNA από δείγματα αίματος με χρήση συστήματος κενού

Για την απομόνωση και τον καθαρισμό γονιδιωματικού DNA από δείγματα ολικού αίματος 200 μl που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία με EDTA ή κιτρικό με χρήση συστήματος κενού, όπως το σύστημα κενού QIAvac 24 Plus.

Σημαντικές πληροφορίες πριν από την έναρξη

Η παρακάτω διαδικασία παρέχει οδηγίες για την επεξεργασία ενός μεμονωμένου δείγματος αίματος. Ωστόσο, είναι δυνατή η επεξεργασία έως και 24 δειγμάτων ταυτόχρονα στο σύστημα κενού QIAvac 24 Plus.

Απαραίτητες ενέργειες πριν από την έναρξη

- Αφήστε τα δείγματα αίματος να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου και βεβαιωθείτε ότι έχουν αναμειχθεί καλά.
- Εάν έχει δημιουργηθεί καθίζημα στο ρυθμιστικό διάλυμα λύσης (AL), διαλύστε το μέσω επώασης στους 56 °C.
- Βεβαιωθείτε πως το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1 (AW1), το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 2 (AW2) και η QIAGEN Protease (QP) έχουν προετοιμαστεί σύμφωνα με τις οδηγίες στην ενότητα «Προετοιμασία αντιδραστηρίων και ρυθμιστικών διαλυμάτων» στη σελίδα 20.
- Αφήστε το ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης (AE) να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου για χρήση στο βήμα 14.
- Ρυθμίστε ένα θερμικό μπλοκ σε θερμοκρασία 56 °C για χρήση στο βήμα 4.
- Για να ελαχιστοποιηθεί η διασταυρούμενη μόλυνση, εισαγάγετε έναν σύνδεσμο VacConnector (VC) σε κάθε προσαρμογέα luer του συστήματος κενού.

- Οι διαδικασίες ελέγχου ποιότητας στην QIAGEN χρησιμοποιούν δοκιμασίες λειτουργίας των kit για κάθε επιμέρους παρτίδα του kit. Συνεπώς, μην αναμειγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες kit και μην συνδυάζετε επιμέρους αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων.
- Βεβαιωθείτε ότι η φιάλη αποβλήτων του συστήματος κενού είναι κενή και ότι όλες οι συνδέσεις είναι συνδεδεμένες σωστά.
- Για λεπτομέρειες σχετικά με τη λειτουργία του συστήματος κενού, ειδικότερα τη συντήρηση, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο που το συνοδεύει.

Διαδικασία

1. Μεταφέρετε με πιπέτα 20 μl QIAGEN Protease (QP) σε ένα σωληνάριο λύσης (LT).

Σημείωση: Ελέγξτε την ημερομηνία λήξης της ανασυσταμένης πρωτεάσης πριν από τη χρήση.

2. Προσθέστε 200 μl δείγματος αίματος στο σωληνάριο λύσης (LT).

3. Προσθέστε 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος λύσης (AL) στο σωληνάριο λύσης (LT), κλείστε το καπάκι και αναμείξτε με παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για 15 s.

Για τη διασφάλιση αποτελεσματικής λύσης είναι απαραίτητη η καλή ανάμειξη του δείγματος και του ρυθμιστικού διαλύματος λύσης (AL), ώστε να προκύψει ένα ομοιογενές διάλυμα.

Σημείωση: Επειδή το ρυθμιστικό διάλυμα λύσης (AL) έχει υψηλό ιξώδες, βεβαιωθείτε ότι έχετε προσθέσει τον σωστό όγκο ρυθμιστικού διαλύματος λύσης (AL) μεταφέροντας με πιπέτα προσεκτικά ή χρησιμοποιώντας μια κατάλληλη πιπέτα.

Σημείωση: Μην προσθέτετε QIAGEN Protease (QP) απευθείας στο ρυθμιστικό διάλυμα λύσης (AL).

4. Επωάστε στους 56 °C (± 1 °C) για 10 min (± 1 min).
5. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο λύσης (LT) για ≥ 5 s στη μέγιστη ταχύτητα για να απομακρύνετε τα σταγονίδια από την εσωτερική πλευρά του καπακιού.

6. Προσθέστε 200 μl αιθανόλης (96–100%) στο σωληνάριο λύσης (LT), κλείστε το καπάκι και αναμείξτε καλά με παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για ≥ 15 s.
7. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο λύσης (LT) για ≥ 5 s στη μέγιστη ταχύτητα για να απομακρύνετε τα σταγονίδια από την εσωτερική πλευρά του καπακιού.
8. Εισαγάγετε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini στον σύνδεσμο VacConnector (VC) στο σύστημα κενού. Βεβαιωθείτε ότι η κύρια βαλβίδα κενού (μεταξύ του συστήματος κενού και της πολλαπλής κενού) και η βαλβίδα με το βιδωτό καπάκι (στην πολλαπλή κενού) είναι κλειστές. Ενεργοποιήστε την αντλία κενού.

Απορρίψτε το σωληνάριο πλύσης (WT) (2 ml) στο οποίο τοποθετείται η στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini στη συσκευασία κυψέλης.

Το κενό εφαρμόζεται μόνο στο σύστημα σύνδεσης (εάν χρησιμοποιείται) και όχι στην πολλαπλή κενού.

9. Προσθέστε προσεκτικά ολόκληρη την ποσότητα του κυτταρολύματος από το βήμα 7 στη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini χωρίς να βρέξετε το χείλος. Αποφεύγετε να αγγίζετε τη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini με το ρύγχος της πιπέτας.

Σημείωση: Εάν επεξεργάζεστε πολλά δείγματα, ανοίγετε μόνο ένα σωληνάριο λύσης (LT) κάθε φορά.

10. Ανοίξτε την κύρια βαλβίδα κενού. Μετά την αναρρόφηση του κυτταρολύματος μέσω της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini, κλείστε την κύρια βαλβίδα κενού και ανοίξτε τη βαλβίδα με το βιδωτό καπάκι στην πολλαπλή κενού για εξαέρωση της πολλαπλής. Κλείστε τη βαλβίδα με το βιδωτό καπάκι αφού το κενό απελευθερωθεί από την πολλαπλή.

Αφού κλείσετε την κύρια βαλβίδα κενού, το κενό εφαρμόζεται μόνο στο σύστημα σύνδεσης (εάν χρησιμοποιείται) και όχι στην πολλαπλή κενού.

Σημείωση: Χρησιμοποιήστε τη βαλβίδα με βιδωτό καπάκι της πολλαπλής κενού για τη γρήγορη απελευθέρωση του κενού.

Σημείωση: Εάν επεξεργάζεστε πολλές στήλες διαχωρισμού QIAamp Mini ταυτόχρονα, συνιστούμε να κλείσετε τη βαλβίδα VacValve κάθε στήλης μετά τη διέλευση του προϊόντος λύσης προκειμένου να μειώσετε τη διάρκεια αυτού του βήματος επεξεργασίας εν κενώ.

Σημείωση: Εάν το κυτταρόλυμα δεν έχει περάσει πλήρως μέσα από τη μεμβράνη μετά από 10 min, τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini σε ένα καθαρό σωληνάριο πλύσης (WT), κλείστε το καπάκι, και φυγοκεντρίστε σε 6.000 x g (8.000 rpm) για 3 min ή έως ότου ολοκληρωθεί η διέλευση του κυτταρολύματος περάσει πλήρως. Τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini σε ένα άλλο καθαρό σωληνάριο πλύσης (WT) και συνεχίστε με το βήμα 10 του πρωτοκόλλου στη σελίδα 32.

Σημείωση: Εάν το κυτταρόλυμα εξακολουθεί να μην περνά μέσα από τη μεμβράνη κατά τη φυγοκέντρηση, απορρίψτε το δείγμα και επαναλάβετε την απομόνωση και τον καθαρισμό με νέο υλικό δείγματος, ξεκινώντας από το βήμα 1 στη σελίδα 31.

11. Τοποθετήστε 750 ml ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 1 (AW1) στη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini χωρίς να βρέξετε το χείλος. Αποφεύγετε να αγγίζετε τη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini με το ρύγχος της πιπέτας. Αφήστε το καπάκι της στήλης ανοιχτό και ανοίξτε την κύρια βαλβίδα κενού. Μετά την αναρρόφηση του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 1 (AW1) μέσω της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini, κλείστε την κύρια βαλβίδα κενού και ανοίξτε τη βαλβίδα με το βιδωτό καπάκι για εξαέρωση της πολλαπλής. Κλείστε τη βαλβίδα με το βιδωτό καπάκι αφού το κενό απελευθερωθεί από την πολλαπλή.
12. Τοποθετήστε 750 ml ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 2 (AW2) στη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini χωρίς να βρέξετε το χείλος. Αποφεύγετε να αγγίζετε τη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini με το ρύγχος της πιπέτας. Αφήστε το καπάκι της στήλης ανοιχτό και ανοίξτε την κύρια βαλβίδα κενού. Μετά την αναρρόφηση του ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 2 (AW2) μέσω της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini, κλείστε την κύρια βαλβίδα κενού και ανοίξτε τη βαλβίδα με το βιδωτό καπάκι για εξαέρωση της πολλαπλής. Κλείστε τη βαλβίδα με το βιδωτό καπάκι αφού το κενό απελευθερωθεί από την πολλαπλή.
13. Κλείστε το καπάκι της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini, αφαιρέστε την από το σύστημα κενού και απορρίψτε τον σύνδεσμο VacConnector (VC). Τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini σε ένα καθαρό σωληνάριο πλύσης (WT) και φυγοκεντρίστε στη μέγιστη ταχύτητα (περίπου 20.000 x g ή 14.000 rpm) για 3 min ώστε να στεγνώσει εντελώς η μεμβράνη.

Σημείωση: Η παράλειψη της ξηρής φυγοκέντρισης μπορεί να οδηγήσει σε αναστολή του προσδιορισμού καθοδικής ροής.

14. Τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini σε ένα καθαρό σωληνάριο έκλουσης (ET) και απορρίψτε το σωληνάριο πλύσης (WT) που περιέχει το διήθημα. Ανοίξτε προσεκτικά το καπάκι της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini και προσθέστε 50 έως 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης (AE) στο κέντρο της μεμβράνης. Κλείστε το καπάκι και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου για 1 min. Φυγοκεντρίστε σε 6.000 x g (8.000 rpm) για 1 min ώστε να γίνει έκλουση του DNA.

Σημείωση: Ακολουθήστε τη διαδικασία συντήρησης για το σύστημα κενού μετά την εκτέλεση αυτού του πρωτοκόλλου (για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. εγχειρίδιο που παρέχεται με το σύστημα κενού).

Πρωτόκολλο: Απομόνωση και καθαρισμός γονιδιωματικού DNA από δείγματα αίματος με τη χρήση μικροφυγόκεντρου ή QIAcube/QIAcube Connect MDx

Για την απομόνωση και τον καθαρισμό γονιδιωματικού DNA από δείγματα ολικού αίματος 200 μl που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία με EDTA ή με κιτρικό με χρήση μικροφυγόκεντρου ή με αυτοματοποιημένο τρόπο στο QIAcube ή στο QIAcube Connect MDx.

Σημαντικές πληροφορίες πριν από την έναρξη

- Η παρακάτω διαδικασία παρέχει οδηγίες για την επεξεργασία ενός μεμονωμένου δείγματος αίματος. Ωστόσο, μπορούν να υποβληθούν σε επεξεργασία πολλά δείγματα ταυτόχρονα. Ο αριθμός τους εξαρτάται από τη χωρητικότητα της μικροφυγόκεντρου που χρησιμοποιείται.
- Η αυτοματοποιημένη επεξεργασία 2–10 ή 12 δειγμάτων μπορεί να εκτελεστεί στα όργανα QIAcube ή QIAcube Connect MDx.
- Για την αυτοματοποιημένη διαδικασία, ακολουθήστε τις οδηγίες που αναφέρονται στα φύλλα πρωτοκόλλου (QIAcube) ή στην οθόνη του λογισμικού (QIAcube Connect MDx) και στο *Εγχειρίδιο χρήση QIAcube ή QIAcube Connect MDx*.

Απαραίτητες ενέργειες πριν από την έναρξη

- Αφήστε τα δείγματα αίματος να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου και βεβαιωθείτε ότι έχουν αναμειχθεί καλά.
- Εάν έχει δημιουργηθεί καθίζημα στο ρυθμιστικό διάλυμα λύσης (AL), διαλύστε το μέσω επώασης στους 56 °C.
- Βεβαιωθείτε πως το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1 (AW1), το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 2 (AW2) και η QIAGEN Protease (QP) έχουν προετοιμαστεί σύμφωνα με τις οδηγίες στην ενότητα «Προετοιμασία αντιδραστηρίων και ρυθμιστικών διαλυμάτων» στη σελίδα 20.

- Αφήστε το ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης (AE) να ισορροπήσει σε θερμοκρασία δωματίου για χρήση στο βήμα 15.
- Ρυθμίστε ένα θερμικό μπλοκ σε θερμοκρασία 56 °C για χρήση στο βήμα 4.
- Οι διαδικασίες ελέγχου ποιότητας στην QIAGEN χρησιμοποιούν δοκιμασίες λειτουργίας των κιτ για κάθε επιμέρους παρτίδα του κιτ. Συνεπώς, μην αναμειγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες κιτ και μην συνδυάζετε επιμέρους αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων.

Διαδικασία

- Για τη χειροκίνητη διαδικασία με μικροφυγόκεντρο, ακολουθήστε τα βήματα 1–15.
- Αυτή η διαδικασία μπορεί να αυτοματοποιηθεί σε 3 διαφορετικές εκδοχές:
 - Όγκος έκλουσης: πλήρης αυτοματοποίηση 100 μl με όγκο έκλουσης 100 μl (έναρξη από το βήμα 1)
 - Όγκος έκλουσης: πλήρης αυτοματοποίηση 200 μl με όγκο έκλουσης 200 μl (έναρξη από το βήμα 1)
 - Χειροκίνητη λύση: μερική αυτοματοποίηση με χειροκίνητη λύση εκτός του οργάνου (έναρξη μετά το βήμα 5)

1. Μεταφέρετε με πιπέτα 20 μl QIAGEN Protease (QP) σε ένα σωληνάριο λύσης (LT).

Σημείωση: Ελέγξτε την ημερομηνία λήξης της ανασυσταμένης πρωτεάσης πριν από την χρήση.

2. Προσθέστε 200 μl δείγματος αίματος στο σωληνάριο λύσης (LT).

3. Προσθέστε 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος λύσης (AL) στο σωληνάριο λύσης (LT), κλείστε το καπάκι και αναμείξτε με παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για 15 s.

Για τη διασφάλιση αποτελεσματικής λύσης είναι απαραίτητη η καλή ανάμειξη του δείγματος και του ρυθμιστικού διαλύματος λύσης (AL), ώστε να προκύψει ένα ομοιογενές διάλυμα.

Σημείωση: Επειδή το ρυθμιστικό διάλυμα λύσης (AL) έχει υψηλό ιξώδες, βεβαιωθείτε ότι έχετε προσθέσει τον σωστό όγκο ρυθμιστικού διαλύματος λύσης (AL) μεταφέροντας με πιπέτα προσεκτικά ή χρησιμοποιώντας μια κατάλληλη πιπέτα.

Σημείωση: Μην προσθέτετε QIAGEN Protease (QP) απευθείας στο ρυθμιστικό διάλυμα λύσης (AL).

4. Επωάστε στους 56 °C (± 1 °C) για 10 min (± 1 min).
5. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο λύσης (LT) για ≥ 5 s στη μέγιστη ταχύτητα για να απομακρύνετε τα σταγονίδια από την εσωτερική πλευρά του καπακιού.

Σημείωση: Εάν η χειροκίνητη λύση (βήματα 1–5) έγινε εκτός του οργάνου, τα παρακάτω βήματα (βήματα 6–15) μπορούν να αυτοματοποιηθούν στο QIAcube ή στο QIAcube Connect MDx με το πρωτόκολλο για τη χειροκίνητη λύση.

6. Προσθέστε 200 μl αιθανόλης (96–100%) στο σωληνάριο λύσης (LT), κλείστε το καπάκι και αναμείξτε καλά με παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα τύπου vortex για ≥ 15 s.
7. Φυγοκεντρίστε το σωληνάριο λύσης (LT) για ≥ 5 s στη μέγιστη ταχύτητα για να απομακρύνετε τα σταγονίδια από την εσωτερική πλευρά του καπακιού.
8. Προσθέστε προσεκτικά ολόκληρη την ποσότητα του κυτταρολύματος από το βήμα 7 στη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini χωρίς να βρέξετε το χείλος. Αποφεύγετε να αγγίζετε τη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini με το ρύγχος της πιπέτας.

Σημείωση: Εάν επεξεργάζεστε πολλά δείγματα, ανοίγετε μόνο ένα σωληνάριο λύσης (LT) κάθε φορά.

9. Κλείστε το καπάκι της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini και φυγοκεντρίστε περίπου σε 6.000 x g για 1 min. Τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini σε ένα καθαρό σωληνάριο πλύσης (WT) και απορρίψτε το σωληνάριο που περιέχει το διήθημα.

Σημείωση: Εάν το κυτταρόλυμα δεν έχει περάσει πλήρως μέσα από τη μεμβράνη μετά από τη φυγοκέντριση σε 6.000 x g (8.000 rpm), φυγοκεντρίστε το ξανά στη μέγιστη ταχύτητα (έως 20.800 x g) για 1 min.

Σημείωση: Εάν το κυτταρόλυμα εξακολουθεί να μην περνά μέσα από τη μεμβράνη κατά τη φυγοκέντριση, απορρίψτε το δείγμα και επαναλάβετε την απομόνωση και τον καθαρισμό με νέο υλικό δείγματος, ξεκινώντας από το βήμα 1 στη σελίδα 31.

10. Ανοίξτε προσεκτικά τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini και προσθέστε 500 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 1 (AW1) χωρίς να βρέξετε το χείλος. Αποφεύγετε να αγγίζετε τη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini με το ρύγχος της πιπέτας.

11. Κλείστε το καπάκι της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini και φυγοκεντρίστε περίπου σε $6.000 \times g$ για 1 min. Τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini σε ένα καθαρό σωληνάριο πλύσης (WT) και απορρίψτε το σωληνάριο που περιέχει το διήθημα.
12. Ανοίξτε προσεκτικά τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini και προσθέστε 500 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 2 (AW2) χωρίς να βρέξετε το χείλος. Αποφεύγετε να αγγίζετε τη μεμβράνη της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini με το ρύγχος της πιπέτας.
13. Κλείστε το καπάκι της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini, και φυγοκεντρίστε στη μέγιστη ταχύτητα (περίπου σε $20.000 \times g$ ή 14.000 rpm) για 1 min. Τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini σε ένα καθαρό σωληνάριο πλύσης (WT) και απορρίψτε το σωληνάριο που περιέχει το διήθημα.
14. Φυγοκεντρίστε στη μέγιστη ταχύτητα (περίπου $20.000 \times g$ ή 14.000 rpm) για 3 min ώστε η μεμβράνη να στεγνώσει τελείως.

Σημείωση: Η παράλειψη της ξηρής φυγοκέντρισης μπορεί να οδηγήσει σε αναστολή του προσδιορισμού καθοδικής ροής.

15. Τοποθετήστε τη στήλη διαχωρισμού QIAamp Mini σε ένα καθαρό σωληνάριο έκλουσης (ET) και απορρίψτε το σωληνάριο πλύσης (WT) που περιέχει το διήθημα. Ανοίξτε προσεκτικά το καπάκι της στήλης διαχωρισμού QIAamp Mini και προσθέστε 50 έως 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης (AE) στο κέντρο της μεμβράνης. Κλείστε το καπάκι και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου για 1 min. Φυγοκεντρίστε περίπου σε $6.000 \times g$ (8.000 rpm) για 1 min ώστε να γίνει έκλουση του DNA.

Σημαντική σημείωση: Σε περίπτωση πλήρους αυτοματοποίησης των διαδικασιών, αφαιρέστε τα εκλούσματα από το όργανο αμέσως μετά την ολοκληρωμένη εκτέλεση και φυλάξτε τα κατάλληλα.

Έλεγχος ποιότητας

Σύμφωνα με το πιστοποιημένο κατά ISO σύστημα διαχείρισης ποιότητας της QIAGEN, κάθε παρτίδα με QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ελέγχεται έναντι προκαθορισμένων προδιαγραφών, ώστε να διασφαλίζεται η σταθερή ποιότητα του προϊόντος.

Περιορισμοί

Η απόδοση του συστήματος έχει τεκμηριωθεί με χρήση ολικού αίματος για την απομόνωση γονιδιωματικού DNA.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να επικυρώνει την απόδοση του συστήματος για οποιοσδήποτε διαδικασίες χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο και δεν καλύπτονται από τις μελέτες απόδοσης της QIAGEN.

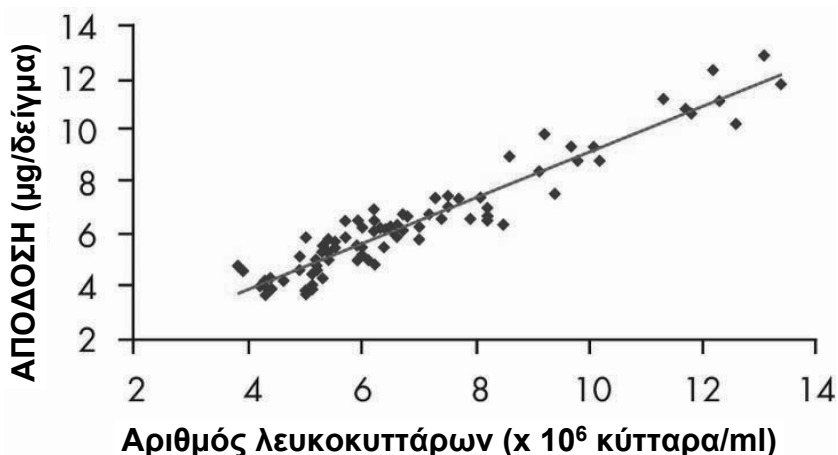
Για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου αρνητικής επίδρασης στα διαγνωστικά αποτελέσματα, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλοι μάρτυρες για καθοδικές εφαρμογές. Για περαιτέρω επικύρωση, συνιστώνται οι κατευθυντήριες γραμμές της Διεθνούς διάσκεψης για την εναρμόνιση τεχνικών απαιτήσεων (ICH) στο έγγραφο ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology (Επικύρωση αναλυτικών διαδικασιών: Κείμενο και μεθοδολογία).

Οποιαδήποτε διαγνωστικά αποτελέσματα προκύπτουν πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με άλλα κλινικά ή εργαστηριακά ευρήματα.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Απόδοση καθαρισμένου DNA

Το γραμμικό εύρος της απόδοσης του DNA με τη χρήση της διαδικασίας επεξεργασίας εν κενώ QIAamp DSP DNA Blood Mini έχει τεκμηριωθεί για αίμα από υγιείς δότες με αριθμό λευκοκυττάρων $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ κύτταρα/ml (βλ. Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Γραμμικό εύρος της απόδοσης DNA στη διαδικασία επεξεργασίας εν κενώ QIAamp DSP DNA Blood Mini με όγκο έκλουσης 200 μl. Οι αριθμοί λευκοκυττάρων των υγιών δοτών έχουν τεκμηριωθεί και βρίσκονταν εντός του εύρους $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ κυττάρων/ml. Το DNA καθαρίστηκε από δείγματα αίματος με χρήση της διαδικασίας επεξεργασίας εν κενώ QIAamp DSP DNA Blood Mini με όγκο έκλουσης 200 μl. Υποβλήθηκαν σε επεξεργασία 87 εις τριπλούν δείγματα.

Απόδοση σε προσδιορισμούς καθοδικής ροής

Το εκλουσμένο γονιδιωματικό DNA είναι έτοιμο για χρήση σε διαφορετικούς προσδιορισμούς καθοδικής ροής, συμπεριλαμβανομένης μιας ποικιλίας *in vitro* διαγνωστικών προσδιορισμών καθοδικής ροής (Πίνακας 2 έως Πίνακα 6). Η επίδραση του όγκου έκλουσης και του όγκου εκλούσματος που χρησιμοποιούνται σε PCR στην απόδοση του PCR έχουν τεκμηριωθεί (βλ. Πίνακα 7).

Πίνακας 2. Προσδιορισμός τύπου HLA με χρήση των Dynal® AllSet™ SSP HLA-A Low Resolution, HLA-B Low Resolution, DR Low Resolution και DQ Low Resolution

Γενετικός τόπος HLA A		Γενετικός τόπος HLA B		Γενετικός τόπος HLA DR		Γενετικός τόπος HLA DQ	
Γονότυπος	Αρ.	Γονότυπος	Αρ.	Γονότυπος	Αρ.	Γονότυπος	Αρ.
A2/A3	2	B51, B51/B13 ή B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 ή DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 ή 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	Άλλο	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Άλλο	0			DR15	1	Άλλο	0
				DR1/DR7	1		
				Άλλο	0		

Συλλέχθηκε ολικό αίμα από διαφορετικούς δότες και το γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 μl ολικού αίματος με χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Με χρήση προσδιορισμών Dynal AllSet⁺ SSP (Thermo Fisher Scientific ή θυγατρικές της), ανιχνεύτηκαν αλληλόμορφα στους καθορισμένους γενετικούς τόπους του δεδομένου αριθμού ατόμων. Αρ.: αριθμός ατόμων.

Πίνακας 3. Προσδιορισμός γονότυπου Factor V Leiden (FV) με χρήση του κιτ ανίχνευσης μεταλλάξεων LightCycler® Factor V Leiden

Γονότυπος	Αριθμός
Άγριου τύπου (Wild type)	17
Ετερόζυγος FV G16191 A	13
Ομόζυγος FV G16191 A	0

Συλλέχθηκε ολικό αίμα από 30 διαφορετικούς δότες και το γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 μl ολικού αίματος με χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Η κατάσταση των αλληλόμορφων στον γενετικό τόπο FV G16191 A προσδιορίστηκε με το κιτ ανίχνευσης μεταλλάξεων LightCycler Factor V Leiden (όμιλος Roche).

Πίνακας 4. Προσδιορισμός γονότυπου Factor V Leiden (FV) με χρήση PCR τελικού σημείου και ανάλυσης Pyrosequencing® με το κιτ PSQ-96 SNP-Reagent Kit στο Pyrosequencing PSQ 96MA

Γονότυπος	Αριθμός
Άγριου τύπου (Wild type)	17
Ετερόζυγος FV G16191 A	13
Ομόζυγος FV G16191 A	0

Συλλέχθηκε ολικό αίμα από 30 διαφορετικούς δότες και το γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 μl ολικού αίματος με χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Η κατάσταση των αλληλόμορφων στον γενετικό τόπο FV G16191 A προσδιορίστηκε με PCR τελικού σημείου και ανάλυσης Pyrosequencing με το κιτ PSQ-96 SNP-Reagent Kit στο Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Πίνακας 5. Προσδιορισμός γονότυπου προθρομβίνης (Prothrombin, PT) με χρήση PCR τελικού σημείου και ανάλυσης Pyrosequencing με το κιτ PSQ-Q96 SNP Reagent Kit στο Pyrosequencing PSQ 96MA

Γονότυπος	Αριθμός
Άγριου τύπου (Wild type)	30
Ετερόζυγος PT G20210A	0
Ομόζυγος PT G20210A	0

Συλλέχθηκε ολικό αίμα από 30 διαφορετικούς δότες και το γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 μl ολικού αίματος με χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Η κατάσταση των αλληλόμορφων στον γενετικό τόπο PT G20210A προσδιορίστηκε με PCR τελικού σημείου και ανάλυσης Pyrosequencing με το κιτ PSQ-96 SNP Reagent Kit στο Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Πίνακας 6. Ανάλυση πολυμορφισμών ApoE T112C και C158T με χρήση PCR τελικού σημείου, με αλληλούχηση του αμπλικονίου με χρήση του κιτ BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit και διαχωρισμό στον αναλυτή ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer

Γονότυπος	Αριθμός
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Άλλο	0

Συλλέχθηκε ολικό αίμα από 10 διαφορετικούς δότες και το γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 μl ολικού αίματος με χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Η ανάλυση των πολυμορφισμών AroE T112C και C158T εκτελέστηκε με χρήση PCR τελικού σημείου, με αλληλούχηση του αμπλικονίου με χρήση του κιτ BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit και διαχωρισμό στον αναλυτή ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific ή θυγατρικές της).

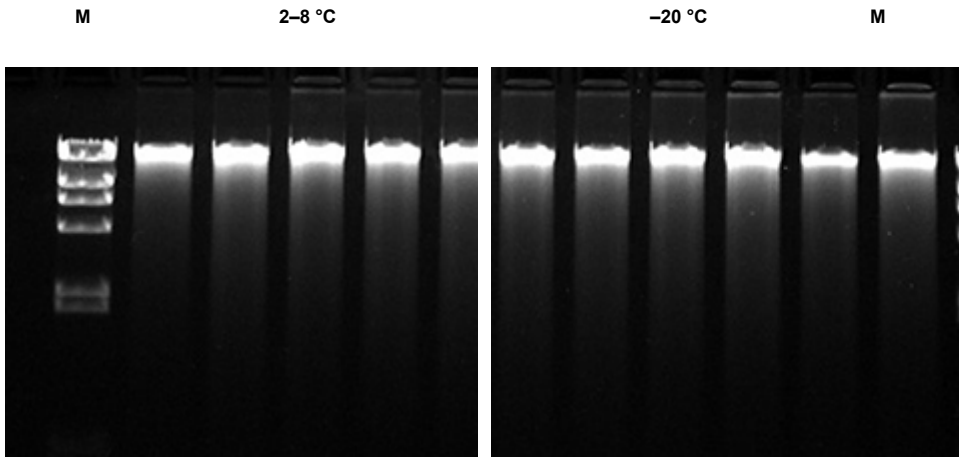
Πίνακας 7. Επίδραση του όγκου έκλουσης και του όγκου εκλούσματος που χρησιμοποιούνται στο PCR στην απόδοση του PCR

Όγκος έκλουσης	Όγκος εκλούσματος ανά 50 μl PCR*		
	2 μl	5 μl	10 μl
50 μl	100%	100%	100%
100 μl	100%	100%	97%
200 μl	100%	100%	100%

* Οι τιμές αποτυπώνουν τα ποσοστά επιτυχίας PCR και αναπαριστούν τη μέση τιμή 48 δειγμάτων.

Σταθερότητα εκλουσμάτων













Στις δοκιμές φύλαξης με εκλούσματα που δημιουργήθηκαν με το QIAamp DNA Blood Mini Kit, ένα κιτ για γενική εργαστηριακή χρήση όμοιας τεχνολογίας, αποδείχτηκε ότι το εκλουσμένο DNA από στήλες διαχωρισμού QIAamp Mini Spin Columns σε ρυθμιστικό διάλυμα Buffer AE παρέμενε σταθερό για 8 έτη σε θερμοκρασία φύλαξης είτε 2 έως 8 °C είτε -30 έως -15 °C (Εικόνα 7). Ωστόσο, βρίσκονται σε εξέλιξη μακροπρόθεσμες μελέτες σχετικά με τη σταθερότητα εκλουσμάτων που έχουν ληφθεί με τη χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

















Εικόνα 7. Μακροπρόθεσμη σταθερότητα DNA που έχει απομονωθεί και καθαριστεί με στήλες διαχωρισμού QIAamp Mini. Το DNA καθαρίστηκε με χρήση του QIAamp DNA Blood Mini Kit, εκλούστηκε σε 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος Buffer AE, και φυλάχθηκε είτε στους 2–8 °C είτε στους –20 °C για 8 έτη. Δείγματα DNA αναλύθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης μέσω χρώσης με βρωμιούχο αιθίδιο. M: δείκτης.

Σύμβολα

Τα παρακάτω σύμβολα ενδέχεται να εμφανίζονται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και την επισήμανση:

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
	Περιέχει αντιδραστήρια που επαρκούν για <N> αντιδράσεις
	Ημερομηνία λήξης
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Κατά την παραλαβή
	Ανοίξτε αμέσως μετά την παραλαβή, φυλάξτε τις στήλες διαχωρισμού QIAamp Mini σε θερμοκρασία 2–8 °C
	Αριθμός καταλόγου
	Αριθμός παρτίδας
	Αριθμός υλικού (δηλ. επισήμανση στοιχείου)
	Συστατικά
	Περιεχόμενα
	Αριθμός
	Διεθνής κωδικός μονάδων εμπορίας
R_n	Η ένδειξη R αφορά την αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης και n είναι ο αριθμός αναθεώρησης

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Κατασκευαστής
	Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης
	Όγκος
	Μετά την προσθήκη αιθανόλης στη φιάλη, σημειώστε την τρέχουσα ημερομηνία
	Προσθήκη
	Λυοφιλοποιημένο
	Ανασυστήστε σε
	Αιθανόλη
	Υδροχλωρική γουανιδίνη
	Σουμπτιλίσινη
	Οδηγεί σε
	Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης
	Σημαντική σημείωση

Πληροφορίες παραγγελιών

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. κατ.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Για 50 παρασκευές DNA: Στήλες διαχωρισμού QIAamp Mini, VacConnectors, QIAGEN Protease, αντιδραστήρια, ρυθμιστικά διαλύματα και σωληνάρια συλλογής	61104
Σχετικά προϊόντα		
QIAcube Connect MDx*	Εγγύηση 1 έτους για τα εξαρτήματα και την εργασία	9003070
Βοηθητικός εξοπλισμός		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	Πολλαπλή κενού για την επεξεργασία 1–24 στηλών διαχωρισμού: Πολλαπλή κενού QIAvac 24 Plus, βύσματα τύπου luer και εξαρτήματα γρήγορης σύζευξης	19413
Vacuum Pump†	Αντλία κενού γενικής χρήσης	84020
VacConnectors†	500 αναλώσιμοι σύνδεσμοι για χρήση με τις στήλες διαχωρισμού QIAamp σε συνδέσμους τύπου luer	19407
Rotor Adapters	Για 240 παρασκευές: 240 αναλώσιμοι προσαρμογείς ρότορα και 240 σωληνάρια έκλουσης (1,5 ml), για χρήση με το QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Στήριγμα για 12 αναλώσιμους προσαρμογείς ρότορα, για χρήση με το QIAcube	990392

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. κατ.
Sample Tubes CB	1000 σωληνάρια με βιδωτό πώμα χωρίς βάση με παρυφή (2 ml) για χρήση με το QIAcube και το QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Για φόρτωση του στατώ ανακινήτρου QIAcube	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Φιάλες αντιδραστηρίων (30 ml) με καλύμματα, συσκευασία των 6, για χρήση με το QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 μl	Αναλώσιμα ρύγχη με φίλτρο, τοποθετημένα σε θήκη (8 x 128). Για χρήση με το QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 μl, wide-bore	Αναλώσιμα ρύγχη με φίλτρο, μεγάλης διαμέτρου, τοποθετημένα σε θήκη (8 x 128), δεν απαιτούνται για όλα τα πρωτόκολλα. Για χρήση με το QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 μl	Αναλώσιμα ρύγχη με φίλτρο, τοποθετημένα σε θήκη (8 x 128). Για χρήση με τα όργανα QIAcube και QIASymphony SP/AS	990332

* Το QIAcube Connect MDx δεν είναι διαθέσιμο σε όλες τις χώρες. Για περισσότερες λεπτομέρειες, επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN.

† Για χρήση με πρωτόκολλα κενού.

Για ενημερωμένες πληροφορίες άδειας χρήσης και για δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, βλ. αντίστοιχο εγχειρίδιο kit ή εγχειρίδιο χρήστη QIAGEN. Οι οδηγίες και τα εγχειρίδια χρήσης των kit QIAGEN είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο **www.qiagen.com**. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα Τεχνικής Εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον αντιπρόσωπο της περιοχής σας.

Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου

Αναθεώρηση Περιγραφή

Αναθ. 2, 01/2021 Ενημερώσεις στις ενότητες «Αυτόματος καθαρισμός σε QIAcube/QIAcube Connect MDx», «Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις» και «Πρωτόκολλο: Απομόνωση και καθαρισμός γονιδιωματικού DNA από δείγματα αίματος με τη χρήση μικροφυγόκεντρου ή QIAcube/QIAcube».

Προσθήκη αναφορών στο QIAcube Connect MDx και τα παρελκόμενά του.

Κατάργηση αναφοράς στο CD στην ενότητα «Περιεχόμενα του kit».

Συντακτικές αλλαγές και αλλαγές διάταξης.

Η σελίδα αυτή είναι σκόπιμα κενή.

Η σελίδα αυτή είναι σκόπιμα κενή.

Άδεια περιορισμένης χρήσης για το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Η χρήση του προϊόντος αυτού συνεπάγεται την αποδοχή εκ μέρους του αγοραστή ή του χρήστη του προϊόντος των παρακάτω όρων:

1. Το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά και μόνο όπως ορίζεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν και όπως ορίζεται στο εγχειρίδιο αυτό και μόνο με τα συστατικά στοιχεία που περιλαμβάνονται στο σετ. Η QIAGEN δεν παρέχει άδεια χρήσης υπό οποιαδήποτε πνευματική ιδιοκτησία της για τη χρήση ή ενσωμάτωση των παρεχόμενων συστατικών αυτού του σετ σε οποιαδήποτε στοιχεία που δεν περιλαμβάνονται σε αυτό το σετ, παρά μόνον όπως περιγράφεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν, στο παρόν εγχειρίδιο και στα συμπληρωματικά πρωτόκολλα που διατίθενται στον ιστότοπο www.qiagen.com. Ορισμένα από αυτά τα πρωτόκολλα έχουν παρασχεθεί από χρήστες της QIAGEN για χρήστες της QIAGEN. Αυτά τα πρωτόκολλα δεν έχουν ελεγχθεί διεξοδικά ή βελτιστοποιηθεί από την QIAGEN. Η QIAGEN δεν εγγυάται για αυτά και δεν παρέχει καμία εγγύηση ότι δεν παραβιάζουν δικαιώματα τρίτων.
2. Εκτός από τις άδειες που αναφέρονται ρητά, η QIAGEN δεν εγγυάται ότι αυτό το σετ ή/και η χρήση(εις) του δεν παραβιάζουν δικαιώματα τρίτων.
3. Αυτό το σετ και τα συστατικά του παραχωρούνται με άδεια για μία μόνο χρήση και δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση, η επαναπεξεργασία, η ανακατασκευή ή η μεταπώλησή τους.
4. Η QIAGEN αποποιείται ειδικά κάθε άλλη άδεια, ρητή ή σιωπηρή, εκτός από αυτές που αναφέρονται ρητά.
5. Ο αγοραστής και ο χρήστης του σετ συμφωνούν να μην προβούν και να μην επιτρέψουν σε άλλο πρόσωπο να προβεί σε ενέργειες οι οποίες θα μπορούσαν να προκαλέσουν ή να διευκολύνουν τυχόν ενέργειες που απαγορεύονται σύμφωνα με τα προαναφερθέντα. Η QIAGEN διατηρεί το δικαίωμα να επιβάλει τις απαγορεύσεις της παρούσας Συμφωνίας άδειας περιορισμένης χρήσης σε οποιοδήποτε δικαστήριο και πρέπει να αποζημιώνεται για όλες τις ερευνητικές και δικαστικές δαπάνες της, συμπεριλαμβανομένων των δικηγορικών αμοιβών, στο πλαίσιο οποιασδήποτε ενέργειας για την επιβολή της παρούσας Συμφωνίας άδειας περιορισμένης χρήσης ή οποιοσδήποτε εκ των δικαιωμάτων πνευματικής της ιδιοκτησίας σχετικά με το σετ ή/και τα συστατικά του.

Για τους εννημερωμένους όρους της άδειας, βλ. www.qiagen.com.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (όμιλος QIAGEN), BD®, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company), Bio-One®, Vacuette®, Greiner Bio-One® (Greiner Bio-One GmbH), Eppendorf®, Thermomixer® (Eppendorf AG), LightCycler® (όμιλος Roche), Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.), ABI PRISM®, *AllSet*™, BigDye®, Dynal® (Thermo Fisher Scientific ή θυγατρικές της). Οι κατατεθείσες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα και εάν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

Παραγγελίες www.qiagen.com/shop | Τεχνική υποστήριξη support.qiagen.com |
Ιστότοπος www.qiagen.com