

Januar 2021

# Navodila za uporabo (priročnik) za komplet QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA Blood Mini Kit



Različica 2



Samo za diagnostično uporabo in vitro



61104



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



1122788SL



# Vsebina

Namen uporabe.....	5
Opis in načelo delovanja .....	6
Liziranje krvnih celic .....	6
Vezava genomske DNK na membrano vrtljive kolone QIAamp Mini .....	6
Samodejno prečiščevanje na QIAcube/QIAcube Connect MDx.....	7
Povzetek in obrazložitev .....	10
Potrebna oprema, ki je vključena v dobavo .....	11
Vsebina kompleta.....	11
Potrebna oprema, ki ni vključena v dobavo.....	12
Opozorila in varnostni ukrepi .....	14
Varnostne informacije .....	14
Shranjevanje in ravnanje z reagenti .....	16
Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim .....	16
Odstranjevanje ostankov onesnaževal.....	18
Elucija prečiščene genomske DNK .....	18
Pomembne opombe .....	19
Pomembne točke pred zagonom protokola.....	19
Priprava reagentov in pufrov .....	19
Ravnanje z vrtljivimi kolonami QIAamp Mini.....	21
Elucija genomske DNK .....	21
Izkoristek in kakovost genomske DNK .....	21
Nastavitev vakuumskega sistema QIAvac 24 Plus .....	22

---

Postopek .....	24
Protokol: Izolacija in prečiščevanje genomske DNK iz vzorcev krvi z uporabo vakuumskega sistema.....	24
Protokol: Izolacija in prečiščevanje genomske DNK iz vzorcev krvi z uporabo mikrocentrifuge ali QIAcube/QIAcube Connect MDx.....	28
Nadzor kakovosti .....	32
Omejitve .....	32
Značilnosti .....	33
Simboli.....	38
Informacije za naročanje .....	40
Zgodovina revizije dokumenta.....	42

---

# Namen uporabe

Komplet QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit je sistem, ki uporablja tehnologijo membrane na osnovi silicijevega dioksida (tehnologijo QIAamp) za izolacijo in prečiščevanje genomske DNK iz bioloških vzorcev.

Izdelek je namenjen za uporabo s strani profesionalnih uporabnikov, npr. tehnikov in zdravnikov, ki so usposobljeni glede molekularnih bioloških tehnik.

Komplet QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit je namenjen za in vitro diagnostično uporabo.

---

# Opis in načelo delovanja

Vsak postopek QIAamp DSP DNA Blood Mini vsebuje 4 korake:

- liziranje celic v vzorcu krvi,
- vezava genomske DNK v celičnem lizatu na membrano vrtljive kolone QIAamp Mini,
- izpiranje membrane,
- elucija genomske DNK iz membrane.

Ta priročnik vsebuje protokole za 2 alternativna postopka QIAamp DSP DNA Blood Mini: postopek vrtenja, ki zahteva centrifugo, in postopek vakuuma, ki zahteva centrifugo in vakuumski sistem (glejte diagram poteka, stran 9). Postopek vrtenja je mogoče avtomatizirati na QIAcube in QIAcube Connect MDx.

## Liziranje krvnih celic

Vzorci se lizirajo v denaturacijskih pogojih pri povišanih temperaturah. Liza se izvaja v prisotnosti proteaze QIAGEN Protease (QP) in pufra za lizo (AL).

## Vezava genomske DNK na membrano vrtljive kolone QIAamp Mini

Za optimizacijo vezave genomske DNK na membrano vrtljive kolone QIAamp Mini se v lizate najprej doda etanol. Nato se vsak lizat nanese na vrtljivo kolono QIAamp Mini in genomska DNK se adsorbira na silikatno membrano, ko se lizat vleče skozi z vakuumskim tlakom ali centrifugalno silo.

## Samodejno prečiščevanje na QIAcube/QIAcube Connect MDx

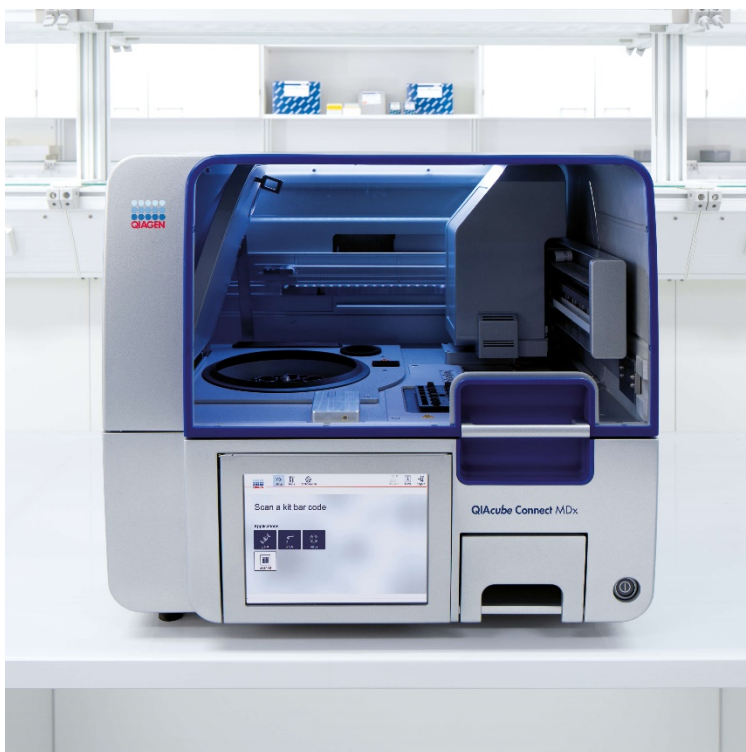
QIAcube in QIAcube Connect MDx izvajata avtomatizirano izolacijo in prečiščevanje nukleinskih kislin. Na en postopek lahko obdela do 12 vzorcev.

Priprava vzorcev z uporabo QIAcube in QIAcube Connect MDx sledi istim korakom kot pri ročnem postopku (tj. liziranje, vezanje, izpiranje in elucija), kar vam omogoča, da še naprej uporabljate komplet QIAamp DSP DNA Mini Kit za prečiščevanje visokokakovostne DNK.

Če avtomatizirate komplet QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit na instrumentih QIAcube ali QIAcube Connect MDx, lahko zaradi avtomatiziranega pipetiranja ti obdelajo manj kot 50 vzorcev zaradi mrtvih volumnov, izhlapevanja in dodatne porabe reagenta. Družba QIAGEN zagotavlja samo 50 pripravkov vzorcev z ročno uporabo kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.












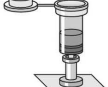

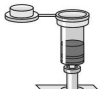

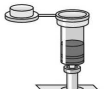

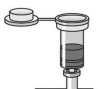

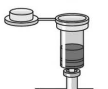








**Slika 1. QIAcube.**



**Slika 2. QIAcube Connect MDx.**



## Postopki vrtenja in vakuumski postopki QIAamp DSP DNA Blood Mini

Postopek vrtenja QIAamp	Vakuumski postopek QIAamp	
Vzorec 	Vzorec 	
		
	Liziranje 	V LT dodajte 20 µl QP, 200 µl vzorca in 200 µl AL vrtinčite za 15 sekund. Inkubirajte 10 minut (± 1 min) pri 56 °C (± 1 °C) Dodajte 200 µl etanola. Vrtinčite za 15 sekund.
		
	Vezava 	Lizat prenesite v vrtljivo kolono QIAamp Mini. Postopek vrtenja: Centrifugirajte 1 minuto pri 6000 x g.
	Vakuum 	Vakuumski postopek: Uporabite vakuum.
	Izpiranje (Buffer AW1) 	Postopek vrtenja: Vrtljivo kolono QIAamp Mini namestite v novi WT, dodajte 500 µl AW1 in centrifugirajte 1 minuto pri 6000 x g.
	Vakuum 	Vakuumski postopek: Dodajte 750 µl AW1 in uporabite vakuum.
	Izpiranje (Buffer AW2) 	Postopek vrtenja: vrtljivo kolono QIAamp Mini namestite v novi WT, dodajte 500 µl AW2 in centrifugirajte 1 minuto pri polni hitrosti (približno 20.000 x g ali 14.000 vrt/min).
	Vakuum 	Vakuumski postopek: Dodajte 750 µl AW2 in uporabite vakuum.
	Elucija 	Vrtljivo kolono QIAamp Mini namestite v WT.
		Centrifugirajte 3 minute pri polni hitrosti (približno 20.000 x g ali 14.000 vrt/min).
		Vrtljivo kolono QIAamp Mini namestite v ET.
		Dodajte 50–200 µl AE in inkubirajte 1 minuto.
Čista genomska ali virusna DNK		Centrifugirajte 1 minuto pri 6000 x g.

---

## Povzetek in obrazložitev

Komplet QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit uporablja dobro uveljavljeno tehnologijo za hiter in enostaven način izolacije in prečiščevanja genomske DNK iz 200 µl polne krvi.













Postopki QIAamp DSP DNA Blood Mini, ki so namenjeni sočasni obdelavi več vzorcev krvi, dajo prečiščeno DNK, pripravljeno za uporabo. Postopki so primerni za uporabo s svežo ali zamrznjeno polno krvjo in krvjo, ki je bila obdelana s citratom ali EDTA.

Preprosti postopki centrifugiranja in vakuumski postopki QIAamp DSP so primerni za sočasno obdelavo več vzorcev. Nekatere postopke vrtenja QIAamp je mogoče popolnoma avtomatizirati na QIAcube ali QIAcube Connect MDx za večjo standardizacijo in enostavnost uporabe (stran 7).

Predhodna ločitev levkocitov ni potrebna. Postopki ne zahtevajo niti ekstrakcije fenola/kloroforma niti oborin alkohola in zahtevajo minimalno interakcijo uporabnika, kar omogoča varno obdelavo potencialno nalezljivih vzorcev. Postopki so namenjeni zmanjšanju navzkrižne kontaminacije med vzorci. Prečiščena DNK je pripravljena za uporabo v PCR ali drugih aplikacijah, alternativno pa jo lahko shranimo pri  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  do  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  za kasnejšo uporabo.

# Potrebna oprema, ki je vključena v dobavo

## Vsebina kompleta

<b>Komplet QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit</b>			
<b>Kataloška št.</b>			<b>61104</b>
<b>Število pripravkov</b>			<b>50*</b>
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (WT) (QIAamp Mini Spin Columns z epruветami za spiranje) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (epruvete za elucijo) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (epruvete za lizo) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (epruvete za spiranje) (2 ml)		3 × 50
AL	Lysis Buffer† (pufer za lizo)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1† (pufer za spiranje 1) (koncentrat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2† (pufer za spiranje 2) (koncentrat)		13 ml
AE	Elution Buffer† (pufer za elucijo)		25 ml
PS	Protease Solvent† (topilo proteaze)		2 ml
QP	QIAGEN Protease§		1 viala
–	Navodila za uporabo (priročnik)		1

\* Če avtomatizirate komplet QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit na instrumentih QIAcube ali QIAcube Connect MDx, lahko zaradi avtomatiziranega pipetiranja instrumenti obdelajo manj kot 50 vzorcev zaradi mrtvih volumnov, izhlapevanja in dodatne porabe reagenta. Družba QIAGEN zagotavlja samo 50 pripravkov vzorcev z ročno uporabo kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

† Vsebuje gvanidinijev klorid. Ni združljiv z razkužili, ki vsebujejo belilo. Za več informacij si oglejte Varnostne informacije na strani 14.

‡ Vsebuje konzervans natrijev azid.

§ Resuspenzijski volumen 1,2 ml. Glejte »Priprava reagentov in pufrov« na strani 19.

## Potrebna oprema, ki ni vključena v dobavo

Pri delu s kemikalijami vedno nosite ustrezno laboratorijsko haljo, rokavice za enkratno uporabo in zaščitna očala. Več informacij poiščite v ustreznih varnostnih listih (Safety Data Sheets, SDS), ki so na voljo pri dobavitelju izdelka.

### Za postopke centrifugiranja in vakuumske postopke

- Etanol (96- do 100-odstotni)
- Pipete\* in konice za pipete (za preprečevanje navzkrižnega onesnaženja močno priporočamo uporabo konic za pipete z aerosolnimi pregradami)
- Rokavice za enkratno uporabo
- Grelni bloki\* za lizo vzorcev pri 56 °C (priporočamo Eppendorf® Thermomixer® comfort s termoblokom za 1,5 ml mikro testne epruvete†)
- Mikrocentrifuga\*
- Merilni valj (50 ml)
- Vibracijski mešalnik

### Samo za vakuumski postopek

- Vakuumski sistem QIAvac 24 Plus (kat. št. 19413) ali enakovreden sistem
- VacConnectors (kat. št. 19407)
- VacValves (kat. št. 19408)
- QIAvac Connecting System (kat. št. 19419)
- Vacuum Pump (kat. št. 84020)
- Vacuum Regulator (kat. št. 19530)

\* Da bi zagotovili pravilno obdelavo vzorcev med postopki QIAamp DSP DNA Blood Mini, močno priporočamo, da instrumente (npr. pipete in grelne bloke) umerite v skladu s priporočili proizvajalcev.

† To ni popoln seznam dobaviteljev in ne vključuje veliko pomembnih prodajalcev bioloških zalog.

---

## Samo za avtomatizirani postopek

- Rotor Adapters, kat. št. 990394
- Rotor Adapter Holder, kat. št. 990392
- Sample Tubes CB, kat. št. 990382 (epruveta za vstavljanje vzorcev)
- Shaker Rack Plugs, kat. št. 9017854
- Reagent Bottles, 30 ml, kat. št. 990393
- Filter Tips, 1000  $\mu$ l, kat. št. 990352
- Filter Tips, 200  $\mu$ l, kat. št. 990332
- SafeSeal Tube, 1,5 ml, Sarstedt® (kat. št. 72.706)

# Opozorila in varnostni ukrepi

Upoštevajte, da boste morda morali proizvajalcu in regulativnemu organu, v katerem biva uporabnik in/ali bolnik, prijaviti resne incidente, ki so se zgodili v zvezi s pripomočkom.

## Varnostne informacije

Pri delu s kemikalijami vedno nosite ustrezno laboratorijsko haljo, rokavice za enkratno uporabo in zaščitna očala. Več informacij poiščite v ustreznih varnostnih listih (Safety Data Sheets, SDS). Ti so v priročni in kompaktni obliki PDF na voljo v spletu na naslovu **[www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)**, kjer lahko najdete, preberete in natisnete varnostne liste (Safety Data Sheets, SDS) za vse complete QIAGEN ter njihove sestavne dele.



**POZOR:** NE dodajajte belila ali kislih raztopin neposredno v odpadke, nastale pri pripravi vzorca.

Pufer za lizo (AL) in pufer za spiranje 1 (AW1) vsebujeta gvanidinijev klorid, ki lahko v kombinaciji z belilom tvori zelo reaktivne spojine. Če se tekočina, ki vsebuje te pufre, razlije, jo očistite z ustreznim laboratorijskim detergentom in vodo. Če razlita tekočina vsebuje snovi, ki lahko povzročijo okužbe, polito območje očistite najprej z laboratorijskih detergentom in vodo ter nato še z 1-odstotno (v/v) raztopino natrijevega hipoklorita. Če so steklenice pufera poškodovane ali puščajo, pri odstranjevanju steklenic nosite rokavice in zaščitna očala, da se izognete svojim telesnim poškodbam ali poškodbam drugih oseb.

Družba QIAGEN ni testirala tekočih odpadkov, ki nastanejo pri postopkih QIAamp DSP DNA Blood Mini glede ostankov kužnih snovi. Onesnaženje tekočih odpadkov z ostanki kužnih snovi je malo verjetno, vendar ga ni mogoče popolnoma izključiti. Zato je treba tekoče odpadke obravnavati kot kužne in jih ravnati ter zavreči v skladu z lokalnimi varnostnimi predpisi.

Naslednji stavki o nevarnosti in previdnostni stavki veljajo za komponente kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

#### Pufer za lizo (AL) in pufer za spiranje 1 (AW1)



Vsebuje: gvanidinijev klorid. Opozorilo! Zdravju škodljivo pri zaužitju ali vdihavanju. Povzroča draženje kože. Povzroča hudo draženje oči. Nosite zaščitne rokavice/zaščitna oblačila/zaščito za oči/zaščito za obraz.

#### QIAGEN Protease (QP)



Vsebuje: subtilisin. Nevarnost! Škodljiv v primeru zaužitja. Povzroča draženje kože. Povzroča resne poškodbe oči. Lahko povzroči simptome alergije ali astme ali težave z dihanjem pri vdihavanju. Lahko povzroči draženje dihal.



Ne vdihavati prahu/dima/plina/meglice/hlapov/razpršila. Nosite zaščitne rokavice/zaščitna oblačila/zaščito za oči/zaščito za obraz. Nositi zaščito za dihalo. PRI STIKU Z OČMI: previdno izpirajte z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem. V PRIMERU IZPOSTAVLJENOSTI ALI ZASKRBLJENOSTI:



Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika. Prenesite žrtev na svež zrak in jo pustite počivati v položaju, ki olajša dihanje.

---

## Shranjevanje in ravnanje z reagenti

Vrtljive kolone QIAamp Mini po prejemu shranite pri temperaturi od 2–8 °C in jih uporabite do izteka roka uporabnosti, navedenega na škatli kompleta.

Vse pufre je treba hraniti pri sobni temperaturi (15–25 °C) do izteka roka uporabnosti, navedenega na škatli kompleta.

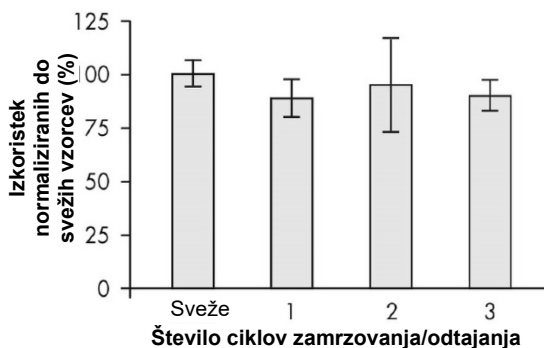
Liofilizirano proteazo QIAGEN Protease (QP) lahko hranite pri sobni temperaturi (15–25 °C) do izteka roka uporabnosti kompleta, ne da bi to vplivalo na delovanje. Rekonstituirana proteaza QIAGEN Protease je stabilna do 1 leta, če je shranjena pri 2–8 °C, vendar le do izteka roka uporabnosti kompleta.

Rekonstituirani pufer za spiranje 1 (AW1) in rekonstituirani pufer za spiranje 2 (AW2) sta stabilna do 1 leta, če sta shranjena pri sobni temperaturi (15–25 °C), vendar le do izteka roka uporabnosti kompleta.

## Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim

Krioprecipitati, ki nastanejo med odmrzovanjem zamrznjenih vzorcev, bodo zamašili membrano vrtljive kolone QIAamp Mini. Če so krioprecipitati vidni, jih med aspiracijo vzorca ne aspirirajte. Ugotovljeni so bili učinki zmrzovanja in odmrzovanja vzorcev krvi pri prečiščevanju DNK z uporabo kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (glejte sliko 3).





**Slika 3. Učinki zamrzovanja in odmrzovanja vzorcev krvi.** Kri, obdelana z EDTA, je bila do 3-krat zamrznjena in odmrznjena, nato pa podvržena prečiščevanju DNK s pomočjo kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Izračunani izkoristki DNK se normalizirajo na izkoristke iz svežega vzorca (100 %). Vsaka vrstica na grafu predstavlja rezultate 32 ponovitev (povprečje ± standardni odklon).

Količina prečiščene DNK v postopkih QIAamp DSP DNA Blood Mini je odvisna od vsebnosti belih krvnih celic v vsakem vzorcu krvi. S postopkom centrifugiranja ali z vakuumskim postopkom genomske DNK prečistimo iz 200 µl vzorcev krvi zdravih darovalcev. Za zbiranje vzorcev krvi za postopke QIAamp DSP DNA Blood Mini lahko uporabimo različne primarne epruvete in antikoagulate (preglednica 1).

**Preglednica 1. Povprečni relativni izkoristki DNK iz vzorcev krvi, odvzetih z uporabo različnih primarnih epruvet in antikoagulantov**

Primarna epruveta	Proizvajalec	Kat. št.	Nazivni volumen	Povprečni izkoristek*
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

Genomske DNK smo prečistili iz 200 µl vzorcev krvi zdravih darovalcev (4,0 do 9,0 x 10<sup>6</sup> celic na ml).

\* Za vsako primarno epruveto se povprečni izkoristek določi iz 11 trikratnih vzorcev.

---

## Odstranjevanje ostankov onesnaževal

Medtem ko genomska DNK ostaja vezana na membrano vrtljive kolone QIAamp Mini Spin Column, onesnaževalce učinkovito speremo s pomočjo pufra za spiranje 1 (AW1) in nato pufra za spiranje 2 (AW2).

## Elucija prečiščene genomske DNK

Genomska DNK se eluira iz membrane vrtljive kolone QIAamp Mini Spin Column z uporabo 50–200 µl pufra za elucijo (AE). Eluirana DNK je pripravljena za uporabo v različnih zaključnih testih, vključno v različnih diagnostičnih zaključnih testih in vitro.

# Pomembne opombe

## Pomembne točke pred zagonom protokola

- Ob prejemu kompleta preverite, ali so kateri sestavni deli morda poškodovani. Če so pretisni omoti ali steklenice s pufrom poškodovane, se obrnite na Oddelek za tehnične storitve družbe QIAGEN ali lokalnega distributerja. Ob razlitju tekočine glejte »Varnostne informacije« (stran 14). Poškodovanih sestavnih delov kompleta ne smete uporabiti, saj se sicer lahko zgodi, da z uporabo kompleta ne boste dobili želenih rezultatov.
- Med prenosi tekočin vedno menjavajte konice za pipete. Za zmanjšanje navzkrižnega onesnaženja, priporočamo uporabo konic za pipete z aerosolno pregrado.
- Vsi koraki centrifugiranja se izvajajo pri sobni temperaturi (15–25 °C).
- Vedno uporabljajte rokavice za enkratno uporabo in redno preverjajte, ali niso onesnažene z vzorci. Zavržite rokavice, če so onesnažene.
- Za zmanjšanje navzkrižnega onesnaženja hkrati odprite samo eno epruveto.
- Kompleta, ki ga trenutno uporabljate, ne uporabljajte skupaj s sestavnimi deli iz drugih kompletov, razen če imajo povsem enake serijske številke.
- Preprečite onesnaženje reagentov iz kompleta z mikrobi.
- Za zmanjšanje tveganja za okužbo s potencialno kužnim materialom, priporočamo, da delate v laminarnih pogojih zračnega toka, dokler se vzorci ne lizirajo.
- Ta komplet lahko uporablja samo osebje, usposobljeno za delo z diagnostičnimi laboratorijskimi pripomočki in vitro.

## Priprava reagentov in pufrov

- Priprava proteaze QIAGEN Protease  
Dodajte 1,2 ml topila proteaze (PS) v vialo liofilizirane proteaze QIAGEN Protease (QP) in previdno zmešajte. Da se izognete penjenju, zmešajte tako, da vialo večkrat obrnete. Prepričajte se, da je proteaza QIAGEN Protease (QP) popolnoma raztopljena.

**Pomembno:** Ne dodajajte proteaze QIAGEN Protease (QP) neposredno v pufer za lizo (AL).

- Priprava pufra za spiranje 1

Z merilnim valjem dodajte 25 ml etanola (96–100 %) v steklenico z 19 ml pufra za spiranje 1 (AW1). Rekonstituirani pufer za spiranje 1 (AW1) shranjujte pri sobni temperaturi (15–25 °C).

**Pomembno:** Rekonstituirani pufer za spiranje 1 (AW1) vedno zmešajte tako, da steklenico večkrat obrnete, preden začnete postopek.

- Priprava pufra za spiranje 2

Z merilnim valjem dodajte 30 ml etanola (96–100 %) v steklenico z 13 ml pufra za spiranje 2 (AW2). Rekonstituirani pufer za spiranje 2 (AW2) shranjujte pri sobni temperaturi (15–25 °C).

**Pomembno:** Rekonstituirani pufer za spiranje 2 (AW2) vedno zmešajte tako, da steklenico večkrat obrnete, preden začnete postopek.

- Priprava pufra za elucijo

Kompletu je priložena ena steklenica pufra za elucijo (AE). Za preprečevanje onesnaženja pufra za elucijo (AE), močno priporočamo, da za pipetiranje pufra za elucijo (AE) iz steklenice uporabljate konice za pipete z aerosolnimi pregradami, ter da takoj po koncu postopka zamenjate pokrovček steklenice.

**Pomembno:** Pufer za elucijo (AE) vsebuje konzervans natrijev azid, ki kaže absorpcijo pri 260 nm. Zato pri kvantificiranju DNK v eluatu z merjenjem absorpcije pri 260 nm, pri določanju čistosti DNK v eluatu z meritvami absorpcije pri 260 nm in 280 nm ali pri skeniranju absorpcije v območju med 220 nm in 350 nm, zagotovite, da prazno mesto vsebuje enako koncentracijo natrijevega azida kot eluat. Če na primer pripravljate eluat za meritve absorpcije z redčenjem 50 µl eluata s 100 µl vode, potem pripravite prazno mesto z razredčenjem 50 µl pufra za elucijo (AE) s 100 µl vode. Za razredčine uporabite svežo, destilirano vodo.

## Ravnanje z vrtljivimi kolonami QIAamp Mini

Zaradi občutljivosti tehnologij pomnoževanja nukleinske kisline so pri ravnanju z vrtljivimi kolonami QIAamp Mini potrebni naslednji previdnostni ukrepi za preprečevanje navzkrižnega onesnaženja med pripravami vzorcev:

- Vzorec ali raztopino previdno nanesite v vrtljivo kolono QIAamp Mini. Vzorec v vrtljivo kolono QIAamp Mini nanesite s pipeto in pri tem ne zmočite roba kolone.
- Med prenosi tekočin vedno menjavajte konice za pipete. Priporočamo uporabo konic za pipete z aerosolno pregrado.
- Pazite, da se s konico za pipete ne dotaknete membrane vrtljive kolone QIAamp Mini.
- Ko končate vse korake pulznega vibracijskega mešanja, na hitro centrifugirajte epruvete z mikrocentrifugo in tako odstranite kapljice z notranje strani pokrovov.
- Odpirajte samo po eno vrtljivo kolono QIAamp Mini hkrati in preprečite nastanek aerosolov.
- Nosite rokavice skozi celoten postopek. V primeru stika med rokavicami in vzorcem rokavice takoj zamenjajte.

## Elucija genomske DNK

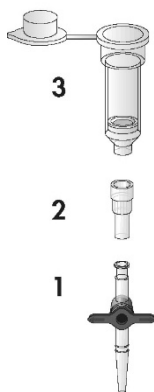
Volumen DNK, eluirane iz vrtljive kolone QIAamp Mini, je lahko do 20 µl manjši od volumna pufra za elucijo (AE), ki se nanese na kolono. Volumen zbranega eluata je odvisen od lastnosti vzorca. Pred nanosom na kolono je treba pufer za elucijo (AE) izenačiti s sobno temperaturo (15–25 °C). Eluirana DNK se zbira v epruveh za elucijo (ET). Če DNK hranite do 4 tedne, priporočamo shranjevanje pri 2–8 °C. Za dolgoročno shranjevanje priporočamo shranjevanje pri –30 do –15 °C.

## Izkoristek in kakovost genomske DNK

Izkoristek in kakovost izolirane genomske DNK sta primerna za številne vrste nadaljnjih postopkov odkrivanja v molekularni diagnostiki. Diagnostične teste je treba izvajati v skladu z navodili proizvajalca.

## Nastavitev vakuumskega sistema QIAvac 24 Plus

Prepričajte se, da ste pravilno nastavili vrtljivo kolono QIAamp Mini, podaljšek kolone VacConnector (VC) in ventil VacValve (glejte sliko 4).



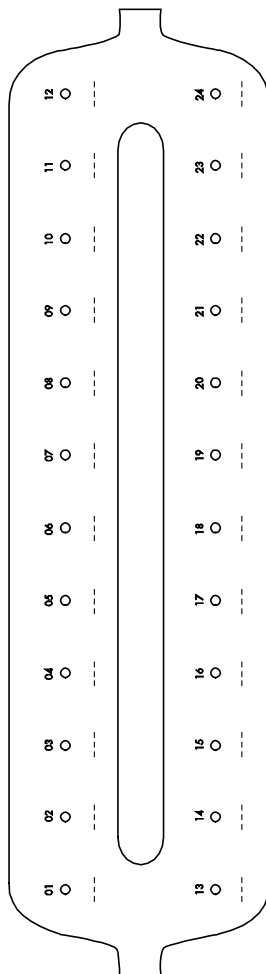
**Slika 4. Sestavljanje komponent kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit za vakuumsko obdelavo vzorcev.**  
(1) Ventil VacValve (2) Podaljšek kolone VacConnector (VC) (3) Vrtljiva kolona QIAamp Mini

Če uporabljate vakuumski postopek z vakuumskim sistemom QIAvac 24 Plus, priporočamo, da označite epruvete za lizo (LT), epruvete za elucijo (ET) in vrtljive kolone QIAamp Mini po shemi na sliki 5 (glejte naslednjo stran), da se izognete mešanju vzorcev. To sliko lahko fotokopirate in označite z imeni vzorcev. Priporočamo uporabo podobne sheme, če uporabljate druge vakuumske sisteme ali če uporabljate postopek centrifugiranja.

Datum: \_\_\_\_\_

Upravljavec: \_\_\_\_\_

ID št. poteka: \_\_\_\_\_



**Slika 5. Shema označevanja epruvel za lizo (LT), epruvel za elucijo (ET) in vrtljivih kolon QIAamp Mini za uporabo na vakuumskem sistemu QIAvac 24 Plus.**

# Postopek

## Protokol: Izolacija in prečiščevanje genomske DNK iz vzorcev krvi z uporabo vakuumskega sistema

Za izolacijo in prečiščevanje genomske DNK iz 200 µl vzorcev polne krvi, obdelanih z EDTA ali citratom, z uporabo vakuumskega sistema, kot je vakuumski sistem QIAvac 24 Plus.

### Pomembne točke pred začetkom

Spodnji postopek vsebuje navodila za obdelavo enega vzorca krvi. V vakuumskem sistemu QIAvac 24 Plus pa je mogoče hkrati obdelati do 24 vzorcev.

### Navodila pred začetkom

- Vzorce krvi izenačite s sobno temperaturo in zagotovite, da so dobro premešani.
- Če se v pufru za lizo (AL) oblikuje oborina, se raztopi z inkubacijo pri 56 °C.
- Prepričajte se, da so bili pufer za spiranje 1 (AW1), pufer za spiranje 2 (AW2) in QIAGEN Protease (QP) pripravljeni v skladu z navodili v »Priprava reagentov in pufrov« na strani 19.
- Pufer za elucijo (AE) izenačite s sobno temperaturo za uporabo v koraku 14.
- Grelni blok nastavite na 56 °C za uporabo v koraku 4.
- Za zmanjšanje navzkrižnega onesnaženja, vstavite podaljšek kolone VacConnector (VC) v vsak adapter Luer vakuumskega sistema.
- Postopki nadzora kakovosti družbe QIAGEN zajemajo preskus funkcionalnosti kompletov pred dajanjem na trg, ki se opravi za vsako posamezno serijo kompletov. Zato ne mešajte reagentov iz različnih serij kompletov in ne kombinirajte posameznih reagentov iz različnih serij reagentov.
- Prepričajte se, da je steklenica za odpadke vakuumskega sistema prazna in da so vse spojke pravilno priključene.



- Za podrobnosti o delovanju vakuumskega sistema, zlasti o vzdrževanju, glejte priloženi priročnik.

## Postopek

1. S pipeto vnesite 20 µl proteaze QIAGEN Protease (QP) v epruveto za lizo (LT).

**Opomba:** Pred uporabo preverite rok uporabnosti rekonstituirane proteaze.

2. V epruveto za lizo (LT) dodajte 200 µl vzorca krvi.
3. V epruveto za lizo (LT) dodajte 200 µl vzorca pufru za lizo (AL), zaprite pokrov in mešajte s pulznim vrtinčenjem 15 sekund.

Za zagotovitev učinkovitega liziranja je nujno, da se vzorec in pufer za lizo (AL) temeljito pomešata, da dobimo homogeno raztopino.

**Opomba:** Ker ima pufer za lizo (AL) visoko viskoznost, poskrbite, da boste s previdnim pipetiranjem ali z uporabo ustrezne pipete dodali pravilno količino pufru za lizo (AL).

**Opomba:** Ne dodajajte proteaze QIAGEN Protease (QP) neposredno v pufer za lizo (AL).

4. Inkubirajte pri 56 °C (± 1 °C) za 10 minut (± 1 minuta).
5. Epruveto za lizo (LT) centrifugirajte ≥ 5 sekund s polno hitrostjo, da odstranite kapljice z notranje strani pokrova.
6. V epruveto za lizo (LT) dodajte 200 µl etanola (96–100 %), zaprite pokrov in temeljito mešajte s pulznim vrtinčenjem ≥ 15 sekund.
7. Epruveto za lizo (LT) centrifugirajte ≥ 5 sekund s polno hitrostjo, da odstranite kapljice z notranje strani pokrova.
8. Vstavite vrtljivo kolono QIAamp Mini v podaljšek kolone VacConnector (VC) na vakuumskem sistemu. Prepričajte se, da sta glavni vakuumski ventil (med vakuumskim sistemom in vakuumskim sklopom) in ventil z navojnim pokrovčkom (na vakuumskem sklopu) zaprta. Vključite vakuumsko črpalko.

Zavržite epruveto za spiranje (WT) (2 ml), v katero je v pretisnem omotu nameščena vrtljiva kolona QIAamp Mini.

Vakuum se uporabi samo za povezovalni sistem (če se uporablja) in ne za vakuumski sklop.

9. Previdno nanesite celoten lizat od koraka 7 v vrtljivo kolono QIAamp Mini, ne da bi zmočili rob. Pazite, da se s konico za pipete ne dotaknete membrane vrtljive kolone QIAamp Mini.

**Opomba:** Če obdelujete več vzorcev, naenkrat odprite le eno epruveto za lizo (LT).

10. Odprite glavni vakuumski ventil. Ko se lizat povleče skozi vrtljivo kolono QIAamp Mini, zaprite glavni vakuumski ventil in odprite ventil z navojnim pokrovčkom na vakuumskem sklopu, da odzračite sklop. Po sprostitvi vakuuma iz sklopa zaprite ventil z navojnim pokrovčkom.

Po zaprtju glavnega vakuumskega ventila se vakuum uporabi samo za povezovalni sistem (če se uporablja) in ne za vakuumski sklop.

**Opomba:** Za hiter izpust vakuuma uporabite ventil z navojnim pokrovčkom vakuumskega sklopa.

**Opomba:** Če hkrati obdelujete več vrtljivih kolon QIAamp Mini, priporočamo, da zaprete VacValve vsake kolone po prehodu lizata, da skrajšate trajanje tega vakuumskega koraka.

**Opomba:** Če lizat po 10 minutah še ni povsem prešel skozi membrano, postavite vrtljivo kolono QIAamp Mini v čisto epruveto za spiranje (WT), zaprite pokrov in 3 minute centrifugirajte pri 6000 x g (8000 vrt/min) ali dokler lizat ne preide v celoti skozi membrano. Vrtljivo kolono QIAamp Mini postavite v drugo čisto epruveto za spiranje (WT) in nadaljujte s korakom 10 protokola na strani 30.

**Opomba:** Če lizat med centrifugiranjem še vedno ne preide skozi membrano, zavrzite vzorec in ponovite izolacijo in prečiščevanje z novim vzorcem, začenši s korakom 1 na strani 29.

11. V vrtljivo kolono QIAamp Mini nanesite 750 µl pufra za spiranje 1 (AW1), ne da bi zmočili rob. Pazite, da se s konico za pipete ne dotaknete membrane vrtljive kolone QIAamp Mini. Pustite pokrov kolone odprt in odprite glavni vakuumski ventil. Ko se pufer za spiranje 1 (AW1) povleče skozi vrtljivo kolono QIAamp Mini, zaprite glavni vakuumski ventil in odprite ventil z navojnim pokrovčkom, da odzračite sklop. Po sprostitvi vakuuma iz sklopa zaprite ventil z navojnim pokrovčkom.

---

12. V vrtljivo kolono QIAamp Mini nanesite 750 µl pufru za spiranje 2 (AW2), ne da bi zmočili rob. Pazite, da se s konico za pipete ne dotaknete membrane vrtljive kolone QIAamp Mini. Pustite pokrov kolone odprt in odprite glavni vakuumski ventil. Ko se pufer za spiranje 2 (AW2) povleče skozi vrtljivo kolono QIAamp Mini, zaprite glavni vakuumski ventil in odprite ventil z navojnim pokrovčkom, da odzračite sklop. Po sprostitvi vakuuma iz sklopa zaprite ventil z navojnim pokrovčkom.

13. Zaprite pokrov vrtljive kolone QIAamp Mini, odstranite jo iz vakuumskega sistema in zavržite podaljšek kolone VacConnector (VC). Vrtljivo kolono QIAamp Mini postavite v čisto epruveto za spiranje (WT) in 3 minute centrifugirajte pri polni hitrosti (približno 20.000 x g, ali 14.000 vrt/min), da se membrana povsem posuši.

**Opomba:** Opustitev suhega centrifugiranja lahko privede do zaviranja zaključnega testa.

14. Vrtljivo kolono QIAamp Mini postavite v čisto epruveto za elucijo (ET) in zavržite epruveto za spiranje (WT), ki vsebuje filtrat. Previdno odprite pokrov vrtljive kolone QIAamp Mini in nanesite od 50 do 200 µl pufru za elucijo (AE) na sredino membrane. Zaprite pokrov in inkubirajte pri sobni temperaturi 1 minuto. 1 minuto centrifugirajte pri 6000 x g (8000 vrt/min), da eluirate DNK.

**Opomba:** Po izvedbi tega protokola sledite postopku vzdrževanja vakuumskega sistema (za več podrobnosti glejte priročnik, priložen vakuumskemu sistemu).

## Protokol: Izolacija in prečiščevanje genomske DNK iz vzorcev krvi z uporabo mikrocentrifuge ali QIAcube/QIAcube Connect MDx

Za izolacijo in prečiščevanje genomske DNK iz 200 µl vzorcev polne krvi, obdelanih z EDTA ali citratom, z uporabo mikrocentrifuge ali avtomatizirano na QIAcube ali QIAcube Connect MDx.

### Pomembne točke pred začetkom

- Spodnji postopek vsebuje navodila za obdelavo enega vzorca krvi. Vendar pa je mogoče obdelati več vzorcev hkrati; število je odvisno od zmogljivosti uporabljene mikrocentrifuge.
- Na instrumentih QIAcube ali QIAcube Connect MDx se lahko izvede avtomatizirana obdelava 2–10 ali 12 vzorcev.
- Za avtomatizacijo upoštevajte navodila iz protokolarnih listov (QIAcube) ali na zaslonu programske opreme (QIAcube Connect MDx) in *uporabniškega priročnika QIAcube ali QIAcube Connect MDx*.

### Navodila pred začetkom

- Vzorce krvi izenačite s sobno temperaturo in zagotovite, da so dobro premešani.
- Če se v pufru za lizo (AL) oblikuje oborina, se raztopi z inkubacijo pri 56 °C.
- Prepričajte se, da so bili pufer za spiranje 1 (AW1), pufer za spiranje 2 (AW2) in QIAGEN Protease (QP) pripravljeni v skladu z navodili v »Priprava reagentov in pufrov« na strani 19.
- Pufer za elucijo (AE) izenačite s sobno temperaturo za uporabo v koraku 15.
- Grelni blok nastavite na 56 °C za uporabo v koraku 4.
- Postopki nadzora kakovosti družbe QIAGEN zajemajo preskus funkcionalnosti kompletov pred dajanjem na trg, ki se opravi za vsako posamezno serijo kompletov. Zato ne mešajte reagentov iz različnih serij kompletov in ne kombinirajte posameznih reagentov iz različnih serij reagentov.

## Postopek

- Za ročni postopek z mikrocentrifugo upoštevajte korake 1 – 15.
  - Ta postopek je mogoče avtomatizirati v 3 različnih različicah:
    - Volumen elucije: 100 µl popolne avtomatizacije s 100 µl volumna elucije (začenši s korakom 1)
    - Volumen elucije: 200 µl popolne avtomatizacije s 200 µl volumna elucije (začenši s korakom 1)
    - Ročna liza: delno avtomatizirana z zunanjo ročno lizo (začenši po koraku 5)
1. S pipeto vnesite 20 µl proteaze QIAGEN Protease (QP) v epruveto za lizo (LT).

**Opomba:** Pred uporabo preverite rok uporabnosti rekonstituirane proteaze.

2. V epruveto za lizo (LT) dodajte 200 µl vzorca krvi.
3. V epruveto za lizo (LT) dodajte 200 µl vzorca pufru za lizo (AL), zaprite pokrov in mešajte s pulznim vrtnčenjem 15 sekund.

Za zagotovitev učinkovitega liziranja je nujno, da se vzorec in pufer za lizo (AL) temeljito pomešata, da dobimo homogeno raztopino.

**Opomba:** Ker ima pufer za lizo (AL) visoko viskoznost, poskrbite, da boste s previdnim pipetiranjem ali z uporabo ustrezne pipete dodali pravilno količino pufru za lizo (AL).

**Opomba:** Ne dodajajte proteaze QIAGEN Protease (QP) neposredno v pufer za lizo (AL).

4. Inkubirajte pri 56 °C (± 1 °C) za 10 minut (± 1 minuta).
5. Epruveto za lizo (LT) centrifugirajte ≥ 5 sekund s polno hitrostjo, da odstranite kapljice z notranje strani pokrova.

**Opomba:** Če je bila ročna liza (koraki 1–5) izvedena izven plošče, je mogoče naslednje korake (korake 6–15) avtomatizirati na QIAcube ali QIAcube Connect MDx s pomočjo protokola za ročno lizo.

6. V epruveto za lizo (LT) dodajte 200 µl etanola (96–100 %), zaprite pokrov in temeljito mešajte s pulznim vrtnčenjem ≥ 15 sekund.
7. Epruveto za lizo (LT) centrifugirajte ≥ 5 sekund s polno hitrostjo, da odstranite kapljice z notranje strani pokrova.

8. Previdno nanesite celoten lizat od koraka 7 v vrtljivo kolono QIAamp Mini, ne da bi zmočili rob. Pazite, da se s konico za pipete ne dotaknete membrane vrtljive kolone QIAamp Mini.

**Opomba:** Če obdelujete več vzorcev, naenkrat odprite le eno epruveto za lizo (LT).

9. Zaprite pokrov vrtljive kolone QIAamp Mini in 1 minuto centrifugirajte pri približno 6000 x g. Vrtljivo kolono QIAamp Mini postavite v čisto epruveto za spiranje (WT) in zavrzite epruveto, ki vsebuje filtrat.

**Opomba:** Če lizat po centrifugiranju pri 6000 x g (8000 vrt/min) še ni povsem prešel skozi membrano, ga ponovno centrifugirajte 1 minuto pri polni hitrosti (do 20.800 x g).

**Opomba:** Če lizat med centrifugiranjem še vedno ne preide skozi membrano, zavrzite vzorec in ponovite izolacijo in prečiščevanje z novim vzorcem, začenši s korakom 1 na strani 29.

10. Previdno odprite vrtljivo kolono QIAamp Mini in dodajte 500 µl pufru za spiranje 1 (AW1), ne da bi zmočili rob. Pazite, da se s konico za pipete ne dotaknete membrane vrtljive kolone QIAamp Mini.

11. Zaprite pokrov vrtljive kolone QIAamp Mini in 1 minuto centrifugirajte pri približno 6000 x g. Vrtljivo kolono QIAamp Mini postavite v čisto epruveto za spiranje (WT) in zavrzite epruveto, ki vsebuje filtrat.

12. Previdno odprite vrtljivo kolono QIAamp Mini in dodajte 500 µl pufru za spiranje 2 (AW2), ne da bi zmočili rob. Pazite, da se s konico za pipete ne dotaknete membrane vrtljive kolone QIAamp Mini.

13. Zaprite pokrov vrtljive kolone QIAamp Mini in 1 minuto centrifugirajte pri polni hitrosti (približno 20.000 x g, ali 14.000 vrt/min). Vrtljivo kolono QIAamp Mini postavite v čisto epruveto za spiranje (WT) in zavrzite epruveto, ki vsebuje filtrat.

14. Približno 3 minute centrifugirajte pri polni hitrosti (približno 20.000 x g, ali 14.000 vrt/min), da povsem posušite membrano.

**Opomba:** Opustitev suhega centrifugiranja lahko privede do zaviranja zaključnega testa.

---

15. Vrtljivo kolono QIAamp Mini postavite v čisto epruveto za elucijo (ET) in zavržite epruveto za spiranje (WT), ki vsebuje filtrat. Previdno odprite pokrov vrtljive kolone QIAamp Mini in nanesite od 50 do 200 µl pufru za elucijo (AE) na sredino membrane. Zaprite pokrov in inkubirajte pri sobni temperaturi 1 minuto. Približno 1 minuto centrifugirajte pri 6000 x g (8000 vrt/min), da eluirate DNK.

**Pomembna opomba:** V primeru vseh avtomatiziranih postopkov eluate odstranite iz instrumenta takoj po končanem postopku in jih pravilno shranite.

---

# Nadzor kakovosti

V skladu s sistemom vodenja kakovosti družbe QIAGEN, certificiranim po standardu ISO, se vsaka serija kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit preskusi v skladu z vnaprej določenimi specifikacijami, s čimer se zagotovi stalna kakovost izdelka.

## Omejitve

Učinkovitost sistema je bila ugotovljena z uporabo polne krvi za izolacijo genomske DNK.

Uporabnik je sam odgovoren za potrjevanje učinkovitosti sistema za kakršne koli postopke, izvedene v laboratoriju, ki jih študije učinkovitosti QIAGEN ne zajemajo.

Pri zaključnih postopkih je treba uporabiti zadostne kontrole in tako zmanjšati tveganje za negativen vpliv na diagnostične rezultate. Za nadaljnjo validacijo priporočamo smernice Mednarodne konference o usklajevanju tehničnih zahtev (ICH) iz publikacije ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology (Validacija analitičnih postopkov: besedilo in metodologija).

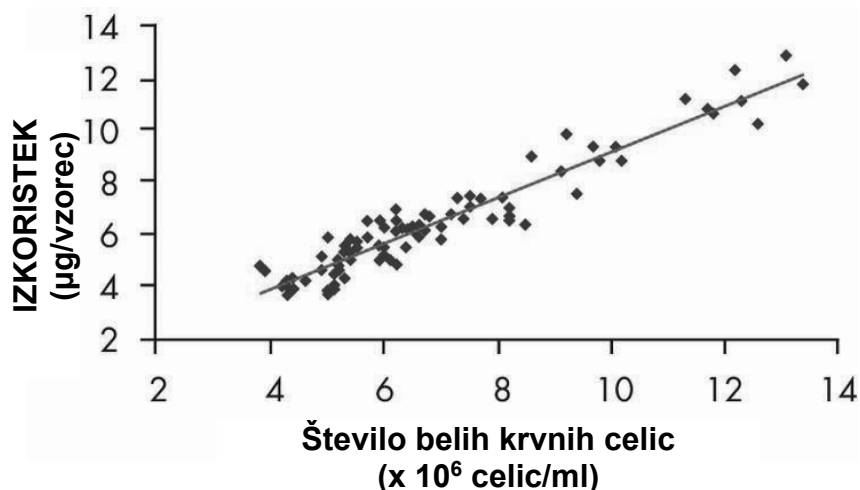
Vsi generirani diagnostični rezultati morajo biti interpretirani v povezavi z drugimi kliničnimi ali laboratorijskimi ugotovitvami.



# Značilnosti

## Izkoristek prečiščene DNK

Linearni razpon izkoristka DNK z uporabo vakuumskega postopka QIAamp DSP DNA Blood Mini je bil določen za kri zdravih darovalcev s številom belih krvnih celic  $3,8 \times 10^6 - 1,34 \times 10^7$  celic/ml (glejte sliko 6).



**Slika 6. Linearni razpon izkoristka DNK z uporabo vakuumskega postopka QIAamp DSP DNA Blood Mini z 200  $\mu\text{l}$  volumna elucije.** Določeno je bilo število belih krvnih celic zdravih darovalcev, ki je bilo v razponu  $3,8 \times 10^6 - 1,34 \times 10^7$  celic/ml. DNK je bila prečiščena iz vzorcev krvi z uporabo vakuumskega postopka QIAamp DSP DNA Blood Mini z 200  $\mu\text{l}$  volumna elucije. Obdelanih je bilo sedeminosemdeset trikratnih vzorcev.

## Učinkovitost v zaključnih testih

Eluirana genomska DNK je pripravljena za uporabo v različnih zaključnih testih, vključno v različnih diagnostičnih zaključnih testih in vitro (od preglednice 2 do preglednice 6). Ugotovljeni so bili učinki volumna elucije in volumna eluata, uporabljenega v PCR, na učinkovitost PCR (glejte preglednico 7).

**Preglednica 2. Določanje tipov HLA z uporabo testa Dynal® AllSet™ SSP HLA-A »Nizka ločljivost«, HLA-B »Nizka ločljivost«, DR »Nizka ločljivost« in DQ »Nizka ločljivost«**

Lokus HLA A		Lokus HLA B		Lokus HLA DR		Lokus HLA DQ	
Genotip	Št.	Genotip	Št.	Genotip	Št.	Genotip	Št.
A2/A3	2	B51, B51/ B13, ali B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 ali DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 ali 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	Drugo	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Drugo	0			DR15	1	Drugo	0
				DR1/DR7	1		
				Drugo	0		

Pri posameznih darovalcih so odvzeli polno kri in genomsko DNK prečistili iz 200 µl polne krvi s pomočjo kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Z uporabo testa Dynal AllSet™ SSP (družbe Thermo Fisher Scientific ali njenih podružnic) so bili aleli identificirani na navedenih mestih pri danem številu posameznikov. Št.: število posameznikov.

**Preglednica 3. Določanje tipov genov Factor V Leiden (FV) z uporabo kompleta za zaznavanje mutacij LightCycler® Factor V Leiden**

Genotip	Številka
Divja vrsta	17
Heterozigoten FV G16191 A	13
Homozigoten FV G16191 A	0

Pri 30 posameznih darovalcih so odvzeli polno kri in genomsko DNK prečistili iz 200 µl polne krvi s pomočjo kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Status alela na lokusu FV G1691 A je bil določen z uporabo kompleta za zaznavanje mutacij LightCycler Factor V Leiden (skupine Roche).

**Preglednica 4. Določanje tipov genov Factor V Leiden (FV) z uporabo končne točke PCR in analizo Pyrosequencing® s kompletom PSQ-96 SNP-Reagent Kit na Pyrosequencing PSQ 96MA**

Genotip	Številka
Divja vrsta	17
Heterozigoten FV G16191 A	13
Homozigoten FV G16191 A	0

Pri 30 posameznih darovalcih so odvzeli polno kri in genomsko DNK prečistili iz 200 µl polne krvi s pomočjo kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Status alela na lokusu FV G1691 A je bil določen z uporabo končne točke PCR in analize Pyrosequencing s kompletom PSQ-96 SNP-Reagent Kit na Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

**Preglednica 5. Določanje tipov genov Prothrombin (PT) z uporabo končne točke PCR in analizo Pyrosequencing s kompletom PSQ-Q96 SNP Reagent Kit na Pyrosequencing PSQ 96MA**

Genotip	Številka
Divja vrsta	30
Heterozigoten PT G20210A	0
Homozigoten PT G20210A	0

Pri 30 posameznih darovalcih so odvzeli polno kri in genomsko DNK prečistili iz 200 µl polne krvi s pomočjo kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Status alela na lokusu PT G20210A je bil določen z uporabo končne točke PCR in analize Pyrosequencing s kompletom PSQ-96 SNP-Reagent Kit na Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

**Preglednica 6. Analiza ApoE Polymorphisms T112C in C158T z uporabo končne točke PCR, s sekvenciranjem pomnožka z uporabo kompleta BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit in ločevanjem na instrumentu ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer**

Genotip	Številka
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Drugo	0

Pri 10 posameznih darovalcih so odvzeli polno kri in genomsko DNK prečistili iz 200 µl polne krvi s pomočjo kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Analiza APoE polymorphisms T112C in C158T je bila izvedena z uporabo končne točke PCR, s sekvenciranjem pomnožka z uporabo kompleta BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit in ločevanjem na instrumentu ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (družbe Thermo Fisher Scientific ali njenih podružnic).

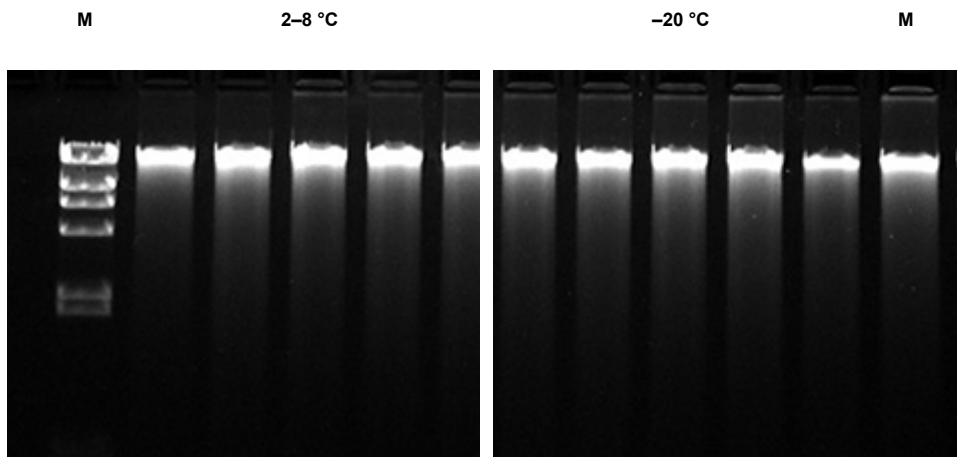
**Preglednica 7. Vplivi volumna eluiranja in volumna eluata, uporabljenega v PCR, na uspešnost PCR**

Volumen elucije	Volumen eluata na 50 µl PCR*		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100 %	100 %	100 %
100 µl	100 %	100 %	97 %
200 µl	100 %	100 %	100 %

\* Vrednosti prikazujejo stopnje zadetkov PCR in predstavljajo povprečje 48 vzorcev.

## Stabilnost eluata














V preskusih shranjevanja z eluati, ustvarjenimi z uporabo kompleta QIAamp DNA Blood Mini Kit, splošnega laboratorijskega kompleta z uporabo enake tehnologije, je bilo dokazano, da je DNK, eluirana iz vrtljivih kolon QIAamp Mini Spin Columns v pufru Buffer AE, stabilna 8 let, če je shranjena pri 2 do 8 °C ali –30 do –15 °C (slika 7). Vendar pa potekajo dolgoročne študije o stabilnosti eluatov, dobljenih z uporabo kompleta QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.










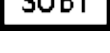





**Slika 7. Dolgoročna stabilnost DNK, izolirane in prečiščene z uporabo vrtljivih kolon QIAamp Mini.** DNK je bila prečiščena s pomočjo kompleta QIAamp DNA Blood Mini Kit, eluirana v 200 µl pušra Buffer AE in je bila 8 let shranjena pri 2–8 °C ali –20 °C. Vzorci DNK smo analizirali na agaroznem gelu, obarvanem z etidij-bromidom. M: označevalec.

# Simboli

V navodilih za uporabo ali na embalaži in oznaki se lahko pojavijo naslednji simboli:

Simbol	Opredelitev simbola
 $\Sigma$ <N>	Vsebuje dovolj reagentov za <N> reakcij
	Uporabno do
	Diagnostični medicinski pripomoček in vitro
	Ob dobavi
	Odprite ob dostavi; vrtljive kolone QIAamp Mini hranite pri temperaturi 2–8 °C
	Kataloška številka
	Serijska številka
	Številka materiala (npr., označevanje komponent)
	Komponente
	Vsebuje
	Številka
	Globalna trgovinska identifikacijska številka
Rn	R pomeni revizijo navodil za uporabo, n pa številko revizije
	Omejitev temperature

Simbol	Opredelitev simbola
	Proizvajalec
	Glejte navodila za uporabo
	Volumen
	Zapišite tekoči datum, ko v stekleničko dodate etanol
	Dodajanje
	Liofilizirano
	Rekonstituirano v
	Etanol
	Gvanidinijev klorid
	Subtilisin
	Vodi do
	Glejte navodila za uporabo
	Pomembna opomba

# Informacije za naročanje

<b>Izdelek</b>	<b>Vsebina</b>	<b>Kat. št.</b>
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Za 50 pripravkov DNK: Vrtljive kolone QIAamp Mini, podaljški kolon, VacConnectors, QIAGEN Protease, reagenti, pufri in zbiralne epruvete	61104
Sorodni izdelki		
QIAcube Connect MDx*	Instrument in 1-letna garancija na dele in delo	9003070
Pribor		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	Vakuumski sklop za obdelavo 1–24 vrtljivih kolon: Vakuumski sklop QIAvac 24 Plus, čepi Luer in hitre spojke	19413
Vacuum Pump†	Univerzalna vakuumaska črpalka	84020
VacConnectors†	500 priključkov za enkratno uporabo za uporabo z vrtljivimi kolonami QIAamp na priključkih Luer	19407
Rotor Adapters	Za 240 pripravkov: 240 vrtljivih adapterjev za enkratno uporabo in 240 epruвет za elucijo (1,5 ml); za uporabo s QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Držalo za 12 vrtljivih adapterjev za enkratno uporabo; za uporabo s QIAcube	990392



Izdelek	Vsebina	Kat. št.
Sample Tubes CB	1000 stožčastih epruвет z navojnim pokrovčkom brez podstavka (2 ml) za uporabo s QIAcube in QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Za nalaganje stojala za stresanje QIAcube	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Steklenice z reagentom (30 ml) s pokrovi, 6 v paketu; za uporabo s QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Konice za filtre za enkratno uporabo, na stojalu; (8 x 128). Za uporabo s QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Konice za filtre za enkratno uporabo, na stojalu; (8 x 128); niso potrebne za vse protokole. Za uporabo s QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Konice za filtre za enkratno uporabo, na stojalu; (8 x 128). Za uporabo s QIAcube in instrumenti QIASymphony SP/AS	990332

\* QIAcube Connect MDx ni na voljo v vseh državah. Za dodatne podrobnosti se obrnite na tehnično službo družbe QIAGEN.

† Za uporabo z vakuumskimi protokoli.

Posodobljene informacije o licenciranju in zavrnitve odgovornosti za izdelek so na voljo v priročniku ali navodilih za uporabo zadevnega kompleta znamke QIAGEN. Priročniki in navodila za uporabo kompletov znamke QIAGEN so na voljo na spletni strani **www.qiagen.com**, lahko pa jih tudi naročite pri Oddelku za tehnične storitve družbe QIAGEN ali lokalnem distributerju.

## Zgodovina revizije dokumenta

Revizija	Opis
R2, 01/2021	<p>Posodobitve razdelkov Samodejno prečiščevanje na QIAcube/QIAcube Connect MDx, Opozorila in varnostni ukrepi in Protokol: Izolacija in prečiščevanje genomske DNK iz vzorcev krvi z uporabo mikrocentrifuge ali QIAcube/QIAcube.</p> <p>Dodane reference za QIAcube Connect MDx in njegovo dodatno opremo.</p> <p>Odstranjene reference za CD v razdelku Vsebina kompleta.</p> <p>Uredniške spremembe in spremembe postavitve.</p>

---

**Ta stran je namenoma prazna.**

---

**Ta stran je namenoma prazna.**

## Sporazum o licenčnih omejitvah za komplet QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Kupec ali uporabnik izdelka z njegovo uporabo soglašša z naslednjimi pogoji:

1. Izdelek se lahko uporablja zgolj v skladu s protokoli, ki so priloženi izdelku, in s to knjižico ter skupaj s sestavnimi deli iz panela. QIAGEN v okviru svoje intelektualne lastnine ne ponuja licenc za uporabo ali kombiniranje priloženih sestavnih delov tega panela s sestavnimi deli, ki niso priloženi temu panelu, razen kot je opisano v protokolih, ki so priloženi izdelku, tem priročniku in dodatnih protokolih, ki so na voljo na [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Nekatere od teh dodatnih protokolov so ustvarili uporabniki QIAGEN za uporabnike QIAGEN. Družba QIAGEN teh protokolov ni temeljito testirala ali optimizirala. Družba QIAGEN ne ponuja garancije ali jamstva, da ti ne kršijo pravic drugih strank.
2. Razen izrecno navedenih licenc družba QIAGEN ne daje drugih jamstev, da ta panel in/ali njegova uporaba ne krši pravic tretjih strank.
3. Ta panel in njegovi sestavni deli so licencirani za enkratno uporabo in jih ni dovoljeno ponovno uporabiti, obnoviti ali prodajati naprej.
4. QIAGEN zlasti zavrača kakršne koli druge licence, izrecne ali nakazane, razen tistih, ki so izrecno navedene.
5. Kupec in uporabnik tega panela se strinjata, da ne bosta ukrepala ali dovolila drugim, da ukrepajo v smeri, ki bi vodila v ali omogočala katerega od zgoraj prepovedanih dejanj. QIAGEN lahko prepovedi iz tega Sporazuma o licenčnih omejitvah uveljavlja na katerem koli sodišču ter dobi povrnjene vse svoje stroške za preiskavo in sodišče, vključno s stroški za odvetnika, pri katerem koli dejanju za uveljavitev tega Sporazuma o licenčnih omejitvah ali pravice intelektualne lastnine v povezavi s tem panelom in/ali njegovimi sestavnimi deli.

Za posodobljene licenčne pogoje glejte [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Blagovne znamke: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (skupina QIAGEN); BD®, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette®, Greiner Bio-One® (Greiner Bio-One GmbH); Eppendorf®, Thermomixer® (Eppendorf AG); LightCycler® (skupina Roche); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.); ABI PRISM®, *Al/Set*™, BigDye®, Dyna® (družbe Thermo Fisher Scientific ali njenih podružnic). V tem dokumentu uporabljena registrirana imena, blagovne znamke itd. se ne smejo šteti kot nezaščitene z zakonom, čeprav niso izrecno označene kot takšne.

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, vse pravice pridržane.

---

Naročila [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehnična podpora [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Spletno mesto [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)