

Januar 2021

QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit Gebrauchsanweisung (Handbuch)



Version 2



In-vitro-Diagnostikum



61104



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



1122788DE



Inhalt

Verwendungszweck	5
Beschreibung und Prinzip	6
Lysieren der Blutzellen	6
Binden der genomischen DNA an die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule	6
Automatisierte Aufreinigung auf dem QIAcube/QIAcube Connect MDx	7
Zusammenfassung und Erläuterung	10
Im Lieferumfang enthaltene Materialien	11
Kit-Inhalt	11
Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	12
Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen	14
Sicherheitshinweise	14
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	16
Lagerung und Handhabung der Proben	16
Entfernung von restlichen Kontaminanten	17
Elution reiner genomischer DNA	17
Wichtige Hinweise	18
Wichtige Hinweise vor Beginn eines Protokolls	18
Vorbereiten der Reagenzien und Puffer	19
Handhabung von QIAamp Mini Spin-Säulen	20
Elution genomischer DNA	21
Ausbeute und Qualität der genomischen DNA	21
Einrichtung des QIAvac 24 Plus Vakuumsystems	21

Verfahren	24
Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben mit einem Vakuumsystem	24
Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben mit einer Mikrozentrifuge oder dem QIAcube/QIAcube Connect MDx	28
Qualitätskontrolle.....	32
Anwendungseinschränkungen	32
Leistungsmerkmale	33
Symbole	38
Bestellinformationen	40
Bearbeitungshistorie des Dokuments.....	42

Verwendungszweck

Das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ist ein System zur Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus biologischen Proben auf Grundlage der Silikamembrantechnologie (QIAamp-Technologie).

Das Produkt darf nur von Fachpersonal wie z. B. technischen Angestellten und Ärzten, die in der Anwendung molekularbiologischer Techniken geschult sind, verwendet werden.

Das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ist für den in-vitro-diagnostischen Gebrauch vorgesehen.

Beschreibung und Prinzip

Jedes QIAamp DSP DNA Blood Mini-Verfahren besteht aus 4 Schritten:

- Lysieren der Zellen in der Blutprobe
- Binden der im Zellysat enthaltenen genomischen DNA an die Membran einer QIAamp Mini Spin-Säule
- Waschen der Membran
- Eluieren der genomischen DNA von der Membran

Dieses Handbuch enthält zwei Protokolle für zwei alternative QIAamp DSP DNA Blood Mini-Verfahren: das Spin-Verfahren, das eine Zentrifuge erfordert, und das Vakuum-Verfahren, das eine Zentrifuge sowie ein Vakuumsystem erfordert (siehe Flussdiagramm, Seite 9). Das Spin-Verfahren kann auf dem QIAcube und dem QIAcube Connect MDx automatisiert werden.

Lysieren der Blutzellen

Die Proben werden bei denaturierenden Bedingungen und erhöhten Temperaturen lysiert. Die Lyse erfolgt in Gegenwart von QIAGEN Protease (QP) und Lysepuffer (AL).

Binden der genomischen DNA an die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule

Zur Optimierung der Bindung der genomischen DNA an die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule wird zunächst Ethanol zu den Lysaten gegeben. Anschließend wird jedes Lysat auf eine QIAamp Mini Spin-Säule aufgetragen und die genomische DNA wird auf der Silikamembran adsorbiert, während das Lysat durch Vakuumdruck oder Zentrifugalkraft die Säule passiert.

Automatisierte Aufreinigung auf dem QIAcube/QIAcube Connect MDx

Der QIAcube und der QIAcube Connect MDx führen eine automatisierte Isolierung und Aufreinigung von Nukleinsäuren durch. Pro Einzellauf können bis zu 12 Proben verarbeitet werden.

Die Probenvorbereitung unter Anwendung des QIAcube und des QIAcube Connect MDx beinhaltet dieselben Schritte wie das manuelle Verfahren (d. h. Lysieren, Binden, Waschen und Eluieren), sodass Sie weiterhin das QIAamp DSP DNA Mini Kit zur Aufreinigung qualitativ hochwertiger DNA verwenden können.

Bei Automatisierung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit auf dem QIAcube oder dem QIAcube Connect MDx Gerät können mit dem Kit möglicherweise aufgrund von Totvolumen, Verdampfung und zusätzlichem Reagenzienverbrauch durch die automatische Pipettierung weniger als 50 Proben verarbeitet werden. QIAGEN garantiert die 50 möglichen Probenverarbeitungen nur bei manueller Anwendung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



Abbildung 1. Der QIAcube.

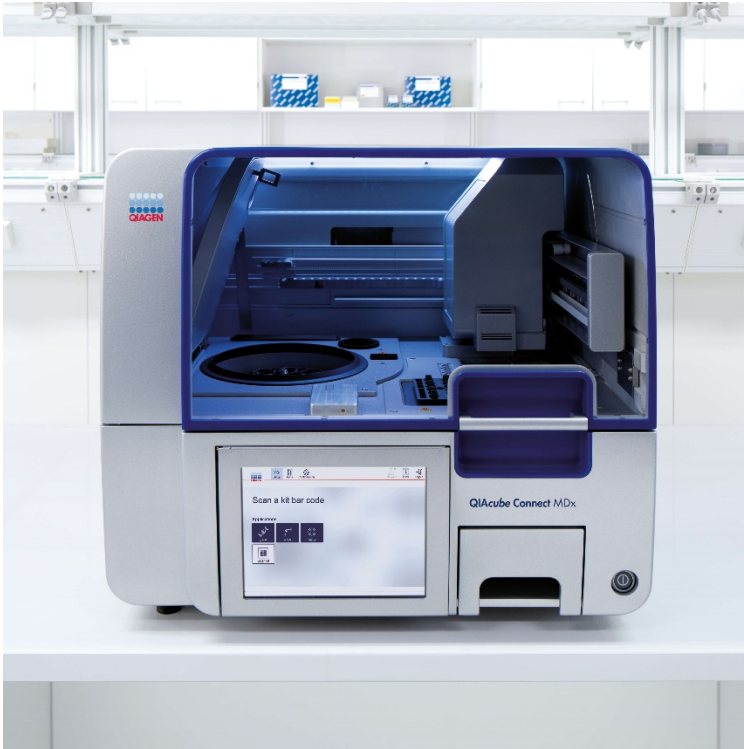
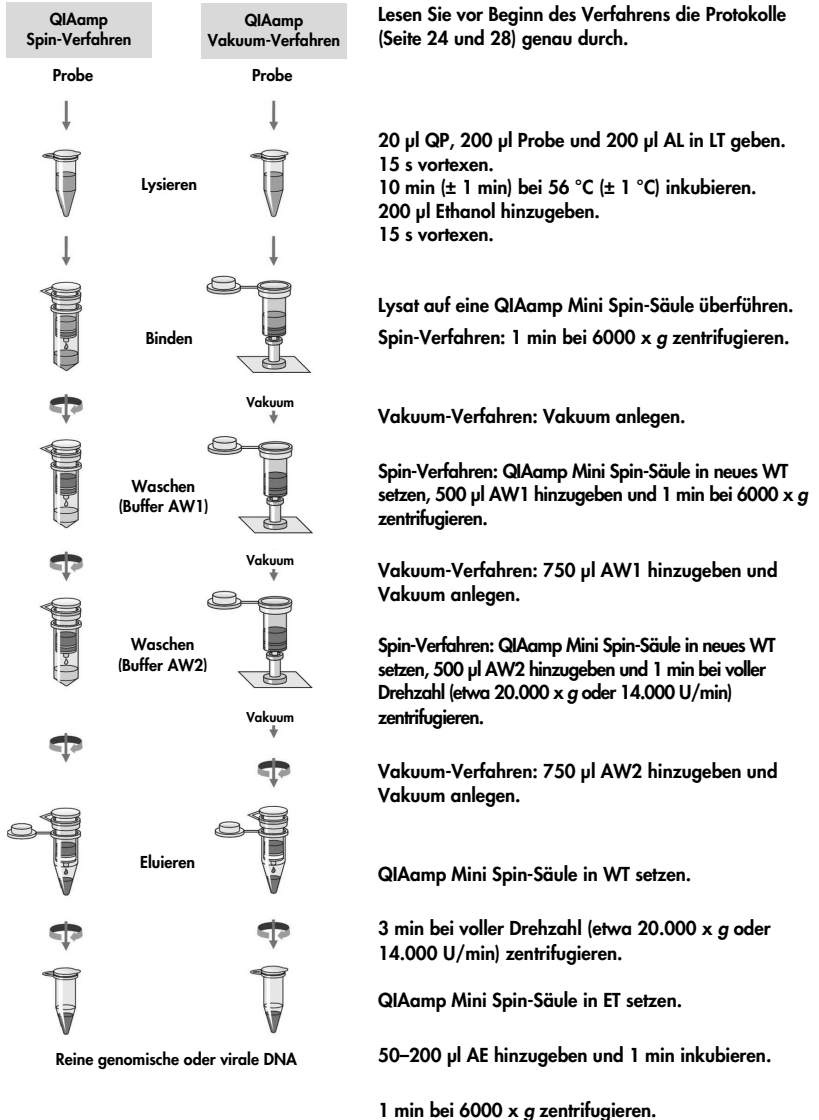


Abbildung 2. Der QIAcube Connect MDx.

Die QIAamp DSP DNA Blood Mini Spin- und Vakuum-Verfahren



Zusammenfassung und Erläuterung

Das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit nutzt bewährte Technologie zur Bereitstellung einer schnellen und einfachen Möglichkeit zur Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus 200 µl Vollblut.













Die QIAamp DSP DNA Blood Mini-Verfahren, die für die gleichzeitige Verarbeitung mehrerer Blutproben entwickelt wurden, liefern aufgereinigte gebrauchsfertige DNA. Die Verfahren eignen sich für die Anwendung mit frischem oder gefrorenem Vollblut und Blut, das mit Citrat oder EDTA behandelt wurde.

Die einfachen QIAamp DSP Spin- und Vakuum-Verfahren eignen sich für die gleichzeitige Verarbeitung mehrerer Proben. Einige der QIAamp Spin-Verfahren können für eine verbesserte Standardisierung und Benutzerfreundlichkeit auf dem QIAcube oder QIAcube Connect MDx vollständig automatisiert werden (Seite 7).

Eine vorangehende Auftrennung der Leukozyten ist nicht erforderlich. Die Verfahren erfordern weder eine Phenol-/Chloroformextraktion noch eine Alkoholausfällung und sind mit einer nur minimalen Anwenderinteraktion verbunden, was eine sichere Handhabung potenziell infektiöser Proben möglich macht. Die Verfahren sind darauf ausgelegt, Kreuzkontaminationen von Probe zu Probe zu minimieren. Die aufgereinigte DNA ist gebrauchsfertig für den Einsatz in PCR oder anderen Anwendungen oder kann alternativ für den späteren Gebrauch bei -25 °C bis -15 °C gelagert werden.

Im Lieferumfang enthaltene Materialien

Kit-Inhalt

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
Katalog-Nr.			61104
Anzahl Präparationen			50*
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (QIAamp Mini Spin Columns mit Waschröhrchen) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Elutionsröhrchen) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (Lyseröhrchen) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Waschröhrchen) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer [†] (Lysepuffer)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 [†] (Waschpuffer 1) (Konzentrat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 [†] (Waschpuffer 2) (Konzentrat)		13 ml
AE	Elution Buffer [‡] (Elutionspuffer)		25 ml
PS	Protease Solvent [‡] (Proteaselösemittel)		2 ml
QP	QIAGEN Protease [§]		1 Fläschchen
-	Gebrauchsanweisung (Handbuch)		1

* Bei Automatisierung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit auf dem QIAcube oder dem QIAcube Connect MDx Gerät können mit dem Kit möglicherweise aufgrund von Totvolumen, Verdampfung und zusätzlichem Reagenzienverbrauch durch die automatische Pipettierung weniger als 50 Proben verarbeitet werden. QIAGEN garantiert die 50 möglichen Probenverarbeitungen nur bei manueller Anwendung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

[†] Enthält Guanidinhydrochlorid. Nicht verträglich mit bleichehaltigen Desinfektionsmitteln. Für weitere Informationen siehe „Sicherheitshinweise“ auf Seite 14.

[‡] Enthält Natriumazid als Konservierungsmittel.

[§] Resuspendierungsvolumen 1,2 ml. Siehe „Vorbereiten der Reagenzien und Puffer“ auf Seite 19.

Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

Für Spin- und Vakuumverfahren

- Ethanol (96–100 %)
- Pipetten* und Pipettenspitzen (zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen empfehlen wir dringend Pipettenspitzen mit Aerosolfiltern)
- Einweghandschuhe
- Heizblock* für die Lyse der Proben bei 56 °C. (Wir empfehlen den Eppendorf® Thermomixer® Comfort mit Thermoblock für 1,5-ml-Mikroreaktionsgefäße.†)
- Mikrozentrifuge*
- Messzylinder (50 ml)
- Vortexer

Nur für das Vakuum-Verfahren

- QIAvac 24 Plus Vakuumsystem (Kat.-Nr. 19413) oder gleichwertig
- VacConnectors (Kat.-Nr. 19407)
- VacValves (Kat.-Nr. 19408)
- QIAvac Connecting System (Kat.-Nr. 19419)
- Vacuum Pump (Kat.-Nr. 84020)
- Vacuum Regulator (Kat.-Nr. 19530)

* Um eine ordnungsgemäße Probenverarbeitung mit den QIAamp DSP DNA Blood Mini-Verfahren sicherzustellen, empfehlen wir dringend, die Geräte (z. B. Pipetten und Heizblocks) nach den Empfehlungen des jeweiligen Herstellers zu kalibrieren.

† Dies ist keine vollständige Aufzählung von Anbietern und viele wichtige Anbieter für Laborzubehör sind nicht enthalten.

Nur für das automatisierte Verfahren

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

Bitte beachten Sie, dass Sie ggf. verpflichtet sind, schwerwiegende Vorfälle, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, dem Hersteller und der Regulierungsbehörde, welcher der Anwender und/oder der Patient unterliegt, zu melden.

Sicherheitshinweise

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen finden Sie in den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS). In unserer Online-Sammlung der Sicherheitsdatenblätter unter www.qiagen.com/safety finden Sie zu jedem QIAGEN-Kit und zu jeder Kit-Komponente das jeweilige SDS als praktische und kompakte PDF-Datei, die Sie einsehen und ausdrucken können.



VORSICHT: Bleichelösungen oder saure Lösungen dürfen NICHT direkt zum Probenvorbereitungsabfall gegeben werden.

Lysepuffer (AL) und Waschpuffer 1 (AW1) enthalten Guanidinhydrochlorid, das in Kombination mit Bleiche hochreaktive Verbindungen bilden kann. Wenn eine Flüssigkeit, die einen oder mehrere dieser Puffer enthält, verschüttet wird, reinigen Sie die betroffenen Flächen mit einem geeigneten Labordetergens und Wasser. Enthält die verschüttete Flüssigkeit potenziell infektiöse Agenzien, reinigen Sie die Fläche zuerst mit Detergens und Wasser, danach mit 1 % (v/v) Natriumhypochlorit. Bei Beschädigung bzw. Auslaufen müssen die Pufferflaschen entsorgt werden; dabei müssen Sie Handschuhe und eine Schutzbrille tragen, um eine Körperverletzung bei Ihnen und anderen Personen zu vermeiden.

QIAGEN hat den bei den QIAamp DSP DNA Blood Mini-Verfahren anfallenden Flüssigabfall nicht auf verbleibende infektiöse Materialien untersucht. Eine Kontamination des Flüssigabfalls mit verbleibendem infektiösem Material ist unwahrscheinlich, kann aber nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Aus diesem Grund muss Flüssigabfall als infektiös betrachtet und gemäß den lokalen Sicherheitsbestimmungen behandelt und entsorgt werden.

Die folgenden Risiko- und Sicherheitssätze gelten für die Komponenten des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Lysepuffer (AL) und Waschpuffer 1 (AW1)



Enthält: Guanidinhydrochlorid. **Warnung!** Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

QIAGEN Protease (QP)



Enthält: Subtilisin. **Gefahr!** Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenschäden. Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. Kann die Atemwege reizen. Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Atemschutz tragen. **BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN:** Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Bei Exposition oder falls betroffen: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Die betroffene Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.



Lagerung und Handhabung der Reagenzien

QIAamp Mini Spin-Säulen sollten nach der Lieferung bei 2–8 °C aufbewahrt werden und sind bis zu dem auf der Kit-Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwendbar.

Alle Puffer können bis zu dem auf dem auf der Kit-Verpackung angegebenen Verfallsdatum bei Raumtemperatur (15–25 °C) gelagert werden.

Lyophilisierte QIAGEN Protease (QP) kann ohne Leistungseinbußen bis zum Verfallsdatum des Kits bei Raumtemperatur (15–25 °C) gelagert werden. Rekonstituierte QIAGEN Protease (QP) ist bei 2–8 °C bis zu 1 Jahr, jedoch maximal bis zum Verfallsdatum des Kits haltbar.

Rekonstituierter Waschpuffer 1 (AW1) und rekonstituierter Waschpuffer 2 (AW2) sind bei Raumtemperatur (15–25 °C) bis zu 1 Jahr, jedoch maximal bis zum Verfallsdatum des Kits haltbar.

Lagerung und Handhabung der Proben

Beim Auftauen der Proben entstandene Kryopräzipitate verstopfen die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule. Falls Kryopräzipitate sichtbar sind, vermeiden Sie es bei der Aspiration der Probe, diese ebenfalls zu aspirieren. Die Auswirkungen des Einfrierens und Auftauens von Blutproben auf die Aufreinigung von DNA mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit wurden untersucht (siehe Abbildung 3).

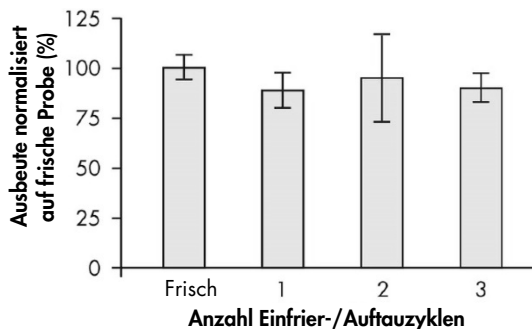


Abbildung 3. Auswirkungen von Einfrieren und Auftauen der Blutproben. Mit EDTA behandelte Blutproben wurden dreimal eingefroren und aufgetaut und anschließend einer DNA-Aufreinigung mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit unterzogen. Die berechneten DNA-Ausbeuten sind normalisiert auf die Ausbeute bei Verwendung frischer Probe (100 %). Jeder Balken im Diagramm repräsentiert die Ergebnisse von 32 Replikaten (Mittelwert ± Standardabweichung).

Die Menge der in den QIAamp DSP DNA Blood Mini-Verfahren aufgereinigten DNA ist abhängig vom Gehalt an weißen Blutzellen in jeder Blutprobe. Genomische DNA wird unter Anwendung des Spin- oder des Vakuum-Verfahrens aus 200- μ l-Blutproben von gesunden Probanden aufgereinigt. Zur Entnahme von Blutproben für die QIAamp DSP DNA Blood Mini-Verfahren eignen sich verschiedene Primärröhrchen und Antikoagulanzen (Tabelle 1).

Tabelle 1. Durchschnittliche relative Ausbeuten an DNA aus Blutproben, die mit verschiedenen Primärröhrchen und Antikoagulanzen entnommen wurden

Primärröhrchen	Hersteller	Kat.-Nr.	Nennvolumen	Durchschnittliche Ausbeute*
BD® Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 μ g
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 μ g
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 μ g
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 μ g
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 μ g
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6,5 μ g
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6,3 μ g

Genomische DNA wurde aus 200- μ l-Blutproben von gesunden Spendern aufgereinigt (4,0 bis 9,0 \times 10⁶ Zellen pro ml).

* Für jedes Primärröhrchen wird die durchschnittliche Ausbeute aus 11 in Dreifachbestimmung gemessenen Proben ermittelt.

Entfernung von restlichen Kontaminanten

Während die genomische DNA an der Membran der QIAamp Mini Spin Column gebunden bleibt, werden die Kontaminanten zunächst mit Waschpuffer 1 (AW1) und dann mit Waschpuffer 2 (AW2) effizient gewegewaschen.

Elution reiner genomischer DNA

Genomische DNA wird mit 50–200 μ l Elutionspuffer (AE) von der Membran der QIAamp Mini Spin Column eluiert. Die eluierte DNA kann für verschiedene nachgelagerte Assays verwendet werden, einschließlich verschiedener in-vitro-diagnostischer Assays.

Wichtige Hinweise

Wichtige Hinweise vor Beginn eines Protokolls

- Überprüfen Sie alle Kit-Komponenten auf Beschädigung, nachdem das Kit geliefert worden ist. Falls die Blisterverpackungen oder die Pufferflaschen beschädigt sind, verständigen Sie den Technischen Service von QIAGEN oder Ihren Händler vor Ort. Für den Fall, dass Flüssigkeit ausgetreten ist oder verschüttet wurde, beachten Sie bitte den Abschnitt „Sicherheitshinweise“ (Seite 14). Verwenden Sie keine beschädigten Kit-Komponenten, da dies zu einer Beeinträchtigung der Leistung des Kits führen könnte.
- Wechseln Sie zwischen den verschiedenen Pipettierschritten stets die Pipettenspitzen. Wir empfehlen, Pipettenspitzen mit Aerosolfiltern zu verwenden, um Kreuzkontamination zu minimieren.
- Alle Zentrifugationsschritte sollten bei Raumtemperatur (15–25 °C) durchgeführt werden.
- Tragen Sie stets Einweghandschuhe, die Sie regelmäßig auf Verschmutzung mit Probenmaterial prüfen müssen. Entsorgen Sie die Handschuhe, falls sie kontaminiert wurden.
- Um Kreuzkontamination zu minimieren, darf immer nur ein Röhrchen geöffnet werden, nicht mehrere gleichzeitig.
- Verwenden Sie keine Kit-Komponenten von anderen Kits zusammen mit dem Kit, das Sie aktuell verwenden, es sei denn, die Chargennummern sind identisch.
- Vermeiden Sie eine Verunreinigung der Kit-Reagenzien mit Mikroorganismen.
- Wir empfehlen, die Arbeiten an einer Sicherheitswerkbank durchzuführen, bis die Proben lysiert sind, um das mit möglicherweise infektiösem Material verbundene Infektionsrisiko zu minimieren.
- Das Kit sollte nur von Personen verwendet werden, die in der Laborpraxis für In-vitro-Diagnostik geschult sind.

Vorbereiten der Reagenzien und Puffer

- Vorbereiten der QIAGEN Protease

Geben Sie 1,2 ml Proteaselösemittel (PS) in das Fläschchen mit der lyophilisierten QIAGEN Protease (QP) und mischen Sie gründlich. Mischen Sie das Fläschchen mehrmals durch Umdrehen, um Schaumbildung zu vermeiden. Stellen Sie sicher, dass die QIAGEN Protease (QP) vollständig gelöst ist.

Wichtig: Die QIAGEN Protease (QP) darf nicht direkt in den Lysepuffer (AL) gegeben werden.

- Vorbereiten von Waschpuffer 1

Messen Sie mit einem Messzylinder 25 ml Ethanol (96–100 %) ab und geben Sie das Ethanol in die Flasche mit 19 ml Waschpufferkonzentrat 1 (AW1). Bewahren Sie den rekonstituierten Waschpuffer 1 (AW1) bei Raumtemperatur (15–25 °C) auf.

Wichtig: Mischen Sie vor Beginn des Verfahrens stets den rekonstituierten Waschpuffer 1 (AW1), indem Sie die Flasche mehrmals über Kopf umdrehen.

- Vorbereiten von Waschpuffer 2

Messen Sie mit einem Messzylinder 30 ml Ethanol (96–100 %) ab und geben Sie das Ethanol in die Flasche mit 13 ml Waschpufferkonzentrat 2 (AW2). Bewahren Sie den rekonstituierten Waschpuffer 2 (AW2) bei Raumtemperatur (15–25 °C) auf.

Wichtig: Mischen Sie vor Beginn des Verfahrens stets den rekonstituierten Waschpuffer 2 (AW2), indem Sie die Flasche mehrmals über Kopf umdrehen.

- Vorbereiten des Elutionspuffers

Im Lieferumfang des Kits ist eine Flasche Elutionspuffer (AE) enthalten. Um eine Kontamination des Elutionspuffers (AE) zu vermeiden, empfehlen wir dringend, beim Pipettieren von Elutionspuffer (AE) aus der Flasche Pipettenspitzen mit Aerosolfiltern zu verwenden und die Flasche sofort danach wieder zu verschließen.

Wichtig: Der Elutionspuffer (AE) enthält das Konservierungsmittel Natriumazid, das eine Extinktion bei 260 nm aufweist. Aus diesem Grund muss bei der Quantifizierung von DNA im Eluat durch Messung der Extinktion bei 260 nm, bei der Bestimmung der DNA-Reinheit im Eluat durch Messung der Extinktion bei 260 nm und 280 nm oder beim Prüfen der Extinktion im Bereich zwischen 220 nm und 350 nm sichergestellt werden, dass die Leerwertmessung die gleiche Konzentration an Natriumazid enthält wie das Eluat. Wenn Sie z. B. ein Eluat durch Verdünnung von 50 µl Eluat mit 100 µl Wasser für die Extinktionsmessung vorbereiten, sollte die Leerwertprobe durch Verdünnung von 50 µl Elutionspuffer (AE) mit 100 µl Wasser erstellt werden. Verwenden Sie für die Verdünnungen frisches, destilliertes Wasser.

Handhabung von QIAamp Mini Spin-Säulen

Wegen der Sensitivität der Nukleinsäure-Amplifikationstechnik sind bei der Handhabung der QIAamp Mini Spin-Säulen die folgenden Vorsichtsmaßnahmen nötig, um Kreuzkontaminationen zwischen den Probenvorbereitungen zu vermeiden:

- Gehen Sie beim Auftragen der Probe bzw. Lösung auf die QIAamp Mini Spin-Säule behutsam vor. Achten Sie beim Pipettieren der Probe in die QIAamp Mini Spin-Säule darauf, den Rand der Säule nicht zu benetzen.
- Wechseln Sie zwischen den verschiedenen Pipettierschritten stets die Pipettenspitzen. Wir empfehlen die Verwendung von Pipettenspitzen mit Aerosolbarriere.
- Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.
- Zentrifugieren Sie die Mikrozentrifugenröhrchen nach jedem Vortexen in Impulsen, um Tropfen von der Unterseite der Deckel zu entfernen.
- Öffnen Sie stets nur eine QIAamp Mini Spin-Säule, und vermeiden Sie Aerosolbildung.
- Tragen Sie während der gesamten Verarbeitung Laborhandschuhe. Sollten Sie die Proben mit den Handschuhen berühren, müssen die Handschuhe sofort gewechselt werden.

Elution genomischer DNA

Das Volumen der von der QIAamp Mini Spin-Säule eluierten DNA kann 20 µl unter dem Volumen des auf die Säule applizierten Elutionspuffers (AVE) liegen. Wie viel Eluat gewonnen wird, hängt von der Art der Probe ab. Der Elutionspuffer (AE) sollte vor dem Auftragen auf die Säule auf Raumtemperatur (15–25 °C) äquilibriert werden. Die eluierte DNA wird in Elutionsröhrchen (ET) aufgefangen. Bei einer Aufbewahrung der DNA für bis zu 4 Wochen empfehlen wir die Lagerung bei 2–8 °C. Für eine längerfristige Aufbewahrung empfehlen wir die Lagerung bei –30 bis –15 °C.

Ausbeute und Qualität der genomischen DNA

Die Ausbeute und die Qualität der isolierten genomischen DNA eignen sich für viele nachgelagerte Nachweisverfahrenstypen der molekularen Diagnostik. Die diagnostischen Assays müssen gemäß den Anweisungen des jeweiligen Herstellers durchgeführt werden.

Einrichtung des QIAvac 24 Plus Vakuumsystems

Vergewissern Sie sich, dass QIAamp Mini Spin-Säule, VacConnector (VC) und VacValve korrekt installiert sind (siehe Abbildung 4).

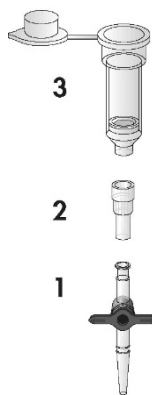


Abbildung 4. Zusammensetzen der Komponenten des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit für die Vakuumverarbeitung von Proben. (1) VacValve (2) VacConnector (VC) (3) QIAamp Mini Spin-Säule

Bei Anwendung des Vakuum-Verfahrens mit dem QIAvac 24 Plus Vakuumsystem empfehlen wir, die Lyseröhrchen (LT), Elutionsöhrchen (ET) und QIAamp Mini Spin-Säulen gemäß der Vorlage in Abbildung 5 (siehe nächste Seite) zu beschriften, um eine Verwechslung von Proben zu vermeiden. Diese Abbildung kann kopiert und mit den Namen der Proben beschriftet werden. Wir empfehlen die Verwendung einer vergleichbaren Vorlage bei Einsatz anderer Vakuumsysteme oder Anwendung des Spin-Verfahrens.

Datum: _____

Bediener: _____

Lauf-ID: _____

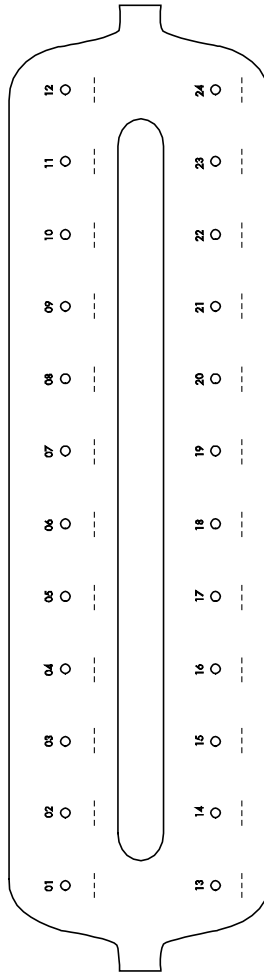


Abbildung 5. Beschriftungsvorlage für Lyseröhrchen (LT), Elutionsröhrchen (ET) und QIAamp Mini Spin-Säulen zur Verwendung auf einem QIAvac 24 Plus Vakuumsystem.

Verfahren

Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben mit einem Vakuumsystem

Für die Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus mit EDTA oder Citrat behandelten 200- μ l-Vollblutproben unter Anwendung eines Vakuumsystems wie dem QIAvac 24 Plus Vakuumsystem.

Wichtige Hinweise vor Beginn

In den folgenden Verfahrensanweisungen wird die Verarbeitung einer einzelnen Blutprobe beschrieben. Das QIAvac 24 Plus Vakuumsystem erlaubt jedoch die gleichzeitige Verarbeitung von bis zu 24 Proben.

Vorbereitende Schritte

- Äquilibrieren Sie die Blutproben auf Raumtemperatur und stellen Sie sicher, dass sie gut gemischt sind.
- Wenn sich im Lysepuffer (AL) Niederschlag gebildet hat, lösen Sie diesen durch Inkubieren bei 56 °C auf.
- Stellen Sie sicher, dass Waschpuffer 1 (AW1), Waschpuffer 2 (AW2) und QIAGEN Protease (QP) gemäß den Anweisungen unter „Vorbereiten der Reagenzien und Puffer“ auf Seite 19 vorbereitet wurden.
- Äquilibrieren Sie den Elutionspuffer (AE) für die Verwendung in Schritt 14 auf Raumtemperatur.
- Stellen Sie einen Heizblock für die Verwendung in Schritt 4 auf 56 °C ein.
- Stecken Sie einen VacConnector (VC) in jeden Luer-Ansatz des Vakuumsystems, um Kreuzkontamination zu minimieren.
- Bei QIAGEN wird jede einzelne Kit-Charge im Rahmen der Qualitätskontrolle zur Freigabe einem Funktionstest unterzogen. Mischen Sie daher keine Reagenzien aus verschiedenen Kit-Chargen und kombinieren Sie keine einzelnen Reagenzien aus verschiedenen Reagenzienchargen.

- Stellen Sie sicher, dass die Abfallflasche des Vakuumsystems leer ist und alle Verbindungsstücke korrekt verbunden sind.
- Einzelheiten zur Bedienung und zur Wartung des Vakuumsystems finden Sie im mitgelieferten Handbuch.

Verfahren

1. Pipettieren Sie 20 µl QIAGEN Protease (QP) in ein Lyseröhrchen (LT).

Hinweis: Überprüfen Sie vor dem Gebrauch das Verfallsdatum der rekonstituierten Protease.

2. Geben Sie 200 µl Blutprobe in das Lyseröhrchen (LT).
3. Geben Sie 200 µl Lysepuffer (AL) in das Lyseröhrchen (LT), schließen Sie den Deckel und mischen Sie den Inhalt des Röhrchens 15 s lang durch Vortexen in Impulsen.

Zur Gewährleistung einer effizienten Lyse müssen Probe und Lysepuffer (AL) gründlich vermischt werden, sodass eine homogene Lösung entsteht.

Hinweis: Da der Lysepuffer (AL) eine hohe Viskosität aufweist, achten Sie darauf, dass das korrekte Volumen von Lysepuffer (AL) zugegeben wird. Pipettieren Sie dafür langsam und verwenden Sie eine geeignete Pipette.

Hinweis: Die QIAGEN Protease (QP) darf nicht direkt in den Lysepuffer (AL) gegeben werden.

4. Inkubieren Sie 10 min (\pm 1 min) lang bei 56 °C (\pm 1 °C).
5. Zentrifugieren Sie das Lyseröhrchen (LT) \geq 5 s lang bei voller Drehzahl, um Tropfen aus dem Inneren des Deckels zu entfernen.
6. Geben Sie 200 µl Ethanol (96–100 %) in das Lyseröhrchen (LT), schließen Sie den Deckel des Röhrchens und mischen Sie \geq 15 s lang durch Vortexen in Impulsen.
7. Zentrifugieren Sie das Lyseröhrchen (LT) \geq 5 s lang bei voller Drehzahl, um Tropfen aus dem Inneren des Deckels zu entfernen.
8. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule auf den VacConnector (VC) des Vakuumsystems. Vergewissern Sie sich, dass das Hauptvakuumventil (zwischen Vakuumsystem und Vakuumverteiler) und die Schraubventilkappe (am Vakuumverteiler) geschlossen sind. Schalten Sie die Vakuumpumpe ein.

Entsorgen Sie das Waschröhrchen (WT) (2 ml), in welches die QIAamp Mini Spin-Säule gesetzt wurde, in den Blister.

Das Vakuum wird nur am Verbindungssystem (falls verwendet) angelegt, nicht am Vakuumverteiler.

9. Geben Sie vorsichtig das gesamte Lysat aus Schritt 7 in die QIAamp Mini Spin-Säule, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.

Hinweis: Bei der Verarbeitung mehrerer Proben darf immer nur ein Lyseröhrchen (LT) geöffnet werden, nicht mehrere gleichzeitig.

10. Öffnen Sie das Hauptvakuumventil. Nachdem das Lysat durch die QIAamp Mini Spin-Säule gesogen wurde, schließen Sie das Hauptvakuumventil und öffnen Sie das Schraubkappenventil am Vakuumverteiler, um den Verteiler zu entlüften. Schließen Sie das Schraubkappenventil, nachdem das Vakuum im Verteiler abgebaut wurde.

Nach dem Schließen des Hauptvakuumventils wird das Vakuum nur am Verbindungssystem (falls verwendet) angelegt, nicht am Vakuumverteiler.

Hinweis: Verwenden Sie für einen schnellen Abbau des Vakuums das Schraubkappenventil am Vakuumverteiler.

Hinweis: Bei gleichzeitiger Verarbeitung mehrerer QIAamp Mini Spin-Säulen empfehlen wir, nach dem Passieren des Lysats das VacValve der jeweiligen Säule zu schließen, um die Dauer dieses Vakuumschrittes zu reduzieren.

Hinweis: Falls das Lysat nach 10 min noch nicht vollständig die Membran passiert hat, setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (WT), schließen Sie den Deckel und zentrifugieren Sie 3 min lang oder so lange, bis das Lysat vollständig die Membran passiert hat, bei 6000 x g (8000 U/min). Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein weiteres sauberes Waschröhrchen (WT) und fahren Sie mit Schritt 10 des Protokolls auf Seite 30 fort.

Hinweis: Wenn das Lysat nach der Zentrifugation noch immer nicht die Membran passiert hat, verwerfen Sie die Probe und wiederholen Sie Isolierung und Aufreinigung mit neuem Probenmaterial beginnend bei Schritt 1 auf Seite 29.

11. Geben Sie 750 µl Waschpuffer 1 (AW1) auf die QIAamp Mini Spin-Säule, ohne den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren. Lassen Sie den Deckel der Säule offen und öffnen Sie das Hauptvakuumventil. Nachdem Waschpuffer 1 (AW1) durch die QIAamp Mini Spin-Säule gesogen wurde, schließen Sie das Hauptvakuumventil und öffnen Sie das Schraubkappenventil, um den Verteiler zu entlüften. Schließen Sie das Schraubkappenventil, nachdem das Vakuum im Verteiler abgebaut wurde.
12. Geben Sie 750 µl Waschpuffer 2 (AW2) auf die QIAamp Mini Spin-Säule, ohne den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren. Lassen Sie den Deckel der Säule offen und öffnen Sie das Hauptvakuumventil. Nachdem Waschpuffer 2 (AW2) durch die QIAamp Mini Spin-Säule gesogen wurde, schließen Sie das Hauptvakuumventil und öffnen Sie das Schraubkappenventil, um den Verteiler zu entlüften. Schließen Sie das Schraubkappenventil, nachdem das Vakuum im Verteiler abgebaut wurde.
13. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule, nehmen Sie sie vom Vakuumsystem ab und entsorgen Sie den VacConnector (VC). Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (WT) und zentrifugieren Sie die Säule bei voller Drehzahl (ungefähr 20.000 x g bzw. 14.000 U/min) 3 min lang, um die Membran vollständig zu trocknen.

Hinweis: Wird der Zentrifugationsschritt zur Trocknung der Membran übersprungen, kann es zu einer Inhibition im nachgelagerten Assay kommen.

14. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Elutionsröhrchen (ET) und werfen Sie das Waschröhrchen (WT) mit dem Filtrat. Öffnen Sie vorsichtig den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie 50 bis 200 µl Elutionspuffer (AE) in die Mitte der Membran. Schließen Sie den Deckel und inkubieren Sie 1 min lang bei Raumtemperatur. Zentrifugieren Sie 1 min lang bei 6000 x g (8000 U/min), um die DNA zu eluieren.

Hinweis: Führen Sie nach Abschluss dieses Protokolls die für das Vakuumsystem vorgesehenen Wartungsmaßnahmen durch (weiterführende Hinweise siehe Handbuch des Vakuumsystems).

Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben mit einer Mikrozentrifuge oder dem QIAcube/QIAcube Connect MDx

Für die Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus mit EDTA oder Citrat behandelten 200- μ l-Vollblutproben unter Anwendung einer Mikrozentrifuge oder automatisiert auf dem QIAcube oder QIAcube Connect MDx.

Wichtige Hinweise vor Beginn

- In den folgenden Verfahrensanweisungen wird die Verarbeitung einer einzelnen Blutprobe beschrieben. Es können jedoch mehrere Proben gleichzeitig verarbeitet werden; die genaue Anzahl ist abhängig von der Kapazität der verwendeten Mikrozentrifuge.
- Auf dem QIAcube oder QIAcube Connect MDx Gerät kann die automatisierte Verarbeitung von 2–10 oder 12 Proben durchgeführt werden.
- Für die Automatisierung befolgen Sie die Anweisungen in den Protokollblättern (QIAcube) oder auf dem Software-Bildschirm (QIAcube Connect MDx) und ziehen Sie die *QIAcube oder QIAcube Connect MDx Gebrauchsanweisung* zurate.

Vorbereitende Schritte

- Äquilibrieren Sie die Blutproben auf Raumtemperatur und stellen Sie sicher, dass sie gut gemischt sind.
- Wenn sich im Lysepuffer (AL) Niederschlag gebildet hat, lösen Sie diesen durch Inkubieren bei 56 °C auf.
- Stellen Sie sicher, dass Waschpuffer 1 (AW1), Waschpuffer 2 (AW2) und QIAGEN Protease (QP) gemäß den Anweisungen unter „Vorbereiten der Reagenzien und Puffer“ auf Seite 19 vorbereitet wurden.
- Äquilibrieren Sie den Elutionspuffer (AE) für die Verwendung in Schritt 15 auf Raumtemperatur.
- Stellen Sie einen Heizblock für die Verwendung in Schritt 4 auf 56 °C ein.
- Bei QIAGEN wird jede einzelne Kit-Charge im Rahmen der Qualitätskontrolle zur Freigabe einem Funktionstest unterzogen. Mischen Sie daher keine Reagenzien aus verschiedenen Kit-Chargen und kombinieren Sie keine einzelnen Reagenzien aus verschiedenen Reagenzienchargen.

Verfahren

- Für das manuelle Verfahren mit einer Mikrozentrifuge befolgen Sie die Schritte 1–15.
 - Dieses Verfahren kann in 3 verschiedenen Versionen automatisiert werden:
 - Elutionsvolumen: 100 µl, vollständige Automatisierung mit Elutionsvolumen von 100 µl (beginnend bei Schritt 1)
 - Elutionsvolumen: 200 µl, vollständige Automatisierung mit Elutionsvolumen von 200 µl (beginnend bei Schritt 1)
 - Manuelle Lyse: teilweise Automatisierung mit manueller Offboard-Lyse (beginnend nach Schritt 5)
1. Pipettieren Sie 20 µl QIAGEN Protease (QP) in ein Lyseröhrchen (LT).

Hinweis: Überprüfen Sie vor dem Gebrauch das Verfallsdatum der rekonstituierten Protease.
 2. Geben Sie 200 µl Blutprobe in das Lyseröhrchen (LT).
 3. Geben Sie 200 µl Lysepuffer (AL) in das Lyseröhrchen (LT), schließen Sie den Deckel und mischen Sie den Inhalt des Röhrchens 15 s lang durch Vortexen in Impulsen.

Zur Gewährleistung einer effizienten Lyse müssen Probe und Lysepuffer (AL) gründlich vermischt werden, sodass eine homogene Lösung entsteht.

Hinweis: Da der Lysepuffer (AL) eine hohe Viskosität aufweist, achten Sie darauf, dass das korrekte Volumen von Lysepuffer (AL) zugegeben wird. Pipettieren Sie dafür langsam und verwenden Sie eine geeignete Pipette.

Hinweis: Die QIAGEN Protease (QP) darf nicht direkt in den Lysepuffer (AL) gegeben werden.
 4. Inkubieren Sie 10 min (\pm 1 min) lang bei 56 °C (\pm 1 °C).
 5. Zentrifugieren Sie das Lyseröhrchen (LT) \geq 5 s lang bei voller Drehzahl, um Tropfen aus dem Inneren des Deckels zu entfernen.

Hinweis: Falls die manuelle Lyse (Schritte 1–5) als Offboard-Lyse durchgeführt wurde, können die folgenden Schritte (Schritte 6–15) auf dem QIAcube oder QIAcube Connect MDx unter Verwendung des Protokolls für die manuelle Lyse automatisiert werden.
 6. Geben Sie 200 µl Ethanol (96–100 %) in das Lyseröhrchen (LT), schließen Sie den Deckel des Röhrchens und mischen Sie \geq 15 s lang durch Vortexen in Impulsen.

7. Zentrifugieren Sie das Lyseröhrchen (LT) ≥ 5 s lang bei voller Drehzahl, um Tropfen aus dem Inneren des Deckels zu entfernen.
8. Geben Sie vorsichtig das gesamte Lysat aus Schritt 7 in die QIAamp Mini Spin-Säule, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.

Hinweis: Bei der Verarbeitung mehrerer Proben darf immer nur ein Lyseröhrchen (LT) geöffnet werden, nicht mehrere gleichzeitig.

9. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und zentrifugieren Sie 1 min lang bei etwa $6000 \times g$. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (WT) und entsorgen Sie das Röhrchen mit dem Filtrat.

Hinweis: Wenn bei der Zentrifugation bei $6000 \times g$ (8000 U/min) nicht das gesamte Lysat die Membran passiert hat, zentrifugieren Sie erneut 1 min lang bei voller Drehzahl (bis zu $20.800 \times g$).

Hinweis: Wenn das Lysat nach der Zentrifugation noch immer nicht die Membran passiert hat, werfen Sie die Probe und wiederholen Sie Isolierung und Aufreinigung mit neuem Probenmaterial beginnend bei Schritt 1 auf Seite 29.

10. Öffnen Sie vorsichtig die QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie $500 \mu\text{l}$ Waschpuffer 1 (AW1) hinzu, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.
11. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und zentrifugieren Sie 1 min lang bei etwa $6000 \times g$. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (WT) und entsorgen Sie das Röhrchen mit dem Filtrat.
12. Öffnen Sie vorsichtig die QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie $500 \mu\text{l}$ Waschpuffer 2 (AW2) hinzu, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.
13. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und zentrifugieren Sie 1 min lang bei voller Drehzahl (etwa $20.000 \times g$ oder 14.000 U/min). Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (WT) und entsorgen Sie das Röhrchen mit dem Filtrat.

14. Zentrifugieren Sie 3 min lang bei voller Drehzahl (etwa 20.000 x g oder 14.000 U/min), um die Membran vollständig zu trocknen.

Hinweis: Wird der Zentrifugationsschritt zur Trocknung der Membran übersprungen, kann es zu einer Inhibition im nachgelagerten Assay kommen.

15. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Elutionsröhrchen (ET) und werfen Sie das Waschröhrchen (WT) mit dem Filtrat. Öffnen Sie vorsichtig den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie 50 bis 200 µl Elutionspuffer (AE) in die Mitte der Membran. Schließen Sie den Deckel und inkubieren Sie 1 min lang bei Raumtemperatur. Zentrifugieren Sie 1 min lang bei etwa 6000 x g (8000 U/min), um die DNA zu eluieren.

Wichtiger Hinweis: Im Falle aller automatisierten Verfahren sind die Eluate direkt nach Abschluss des Laufs aus dem Gerät zu entnehmen und angemessen zu lagern.

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von QIAGEN wird jede Charge von QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit nach festgelegten Prüfkriterien kontrolliert, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Anwendungseinschränkungen

Die Systemleistung wurde unter Verwendung von Vollblut zur Isolierung genomischer DNA etabliert.

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, für jedes Verfahren, das im Labor des Anwenders durchgeführt wird und das nicht durch die Leistungsstudien von QIAGEN abgedeckt ist, die Leistungscharakteristik des Systems selbst zu validieren.

Um das Risiko einer negativen Auswirkung auf die Ergebnisse der diagnostischen Tests zu minimieren, sollten in nachgelagerten Anwendungen geeignete Kontrollen mitgeführt werden. Zur weiteren Validierung werden die Richtlinien der International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) (Internationale Konferenz für die Harmonisierung technischer Anforderungen) im Dokument ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text And Methodology (Validierung analytischer Verfahren: Text und Methodik) empfohlen.

Alle diagnostischen Ergebnisse müssen unter Berücksichtigung vorliegender klinischer und labortechnischer Daten interpretiert werden.

Leistungsmerkmale

Ausbeute an aufgereinigter DNA

Der lineare Bereich der DNA-Ausbeute mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Vakuum-Verfahren wurde für Blut von gesunden Spendern mit Leukozytenzahlen zwischen $3,8 \times 10^6$ und $1,34 \times 10^7$ Zellen/ml bestimmt (siehe Abbildung 6).

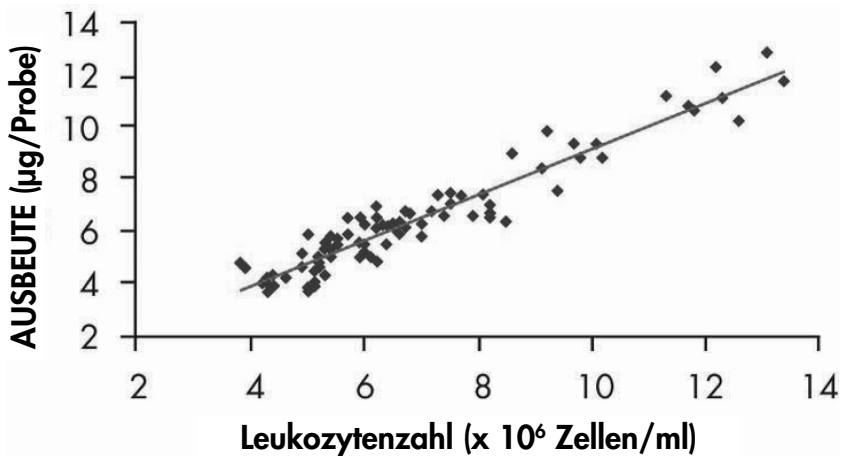


Abbildung 6. Linearer Bereich der DNA-Ausbeute bei Anwendung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Vakuum-Verfahrens mit einem Elutionsvolumen von 200 µl. Die Leukozytenzahlen von gesunden Spendern wurden bestimmt und lagen im Bereich $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ Zellen/ml. Die DNA wurde mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Vakuum-Verfahren mit einem Elutionsvolumen von 200 µl aus den Blutproben isoliert. Insgesamt wurden 87 Proben in Dreifachbestimmung verarbeitet.

Leistung in nachgelagerten Assays

Die eluierte genomische DNA ist einsatzbereit für verschiedene nachgelagerte Assays, einschließlich unterschiedlicher in-vitro-diagnostischer nachgelagerter Assays (Tabelle 2 bis Tabelle 6). Die Auswirkungen des Elutionsvolumens und des in einer PCR eingesetzten Eluatvolumens wurden ermittelt (siehe Tabelle 7).

Tabelle 2. HLA-Typisierung mit den Dynal® AllSet™ SSP-Assays HLA-A „Niedrige Auflösung“, HLA-B „Niedrige Auflösung“, DR „Niedrige Auflösung“ und DQ „Niedrige Auflösung“

HLA-Locus A		HLA-Locus B		HLA-Locus DR		HLA-Locus DQ	
Genotyp	Anz.	Genotyp	Anz.	Genotyp	Anz.	Genotyp	Anz.
A2/A3	2	B51, B51/ B13 oder B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 oder DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 oder 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	Sonstige	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Sonstige	0			DR15	1	Sonstige	0
				DR1/DR7	1		
				Sonstige	0		

Vollblut wurde von Einzelspendern entnommen, und aus jeweils 200 µl Vollblut wurde mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit genomische DNA aufgereinigt. Unter Einsatz von Dynal *AllSet* SSP-Assays (Thermo Fisher Scientific oder Tochtergesellschaften) wurden die Allele an den angegebenen Loci bei der jeweiligen Anzahl Probanden identifiziert. Anz.: Anzahl Probanden.

Tabelle 3. Factor-V-Leiden(FV)-Genotypisierung mit dem LightCycler® Factor V Leiden Mutationsnachweis-Kit

Genotyp	Anzahl
Wildtyp	17
FV G16191A heterozygot	13
FV G16191A homozygot	0

Vollblut wurde von 30 Einzelspendern entnommen, und aus jeweils 200 µl Vollblut wurde mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit genomische DNA aufgereinigt. Der Allelstatus am Locus FV G1691 A wurde mithilfe des LightCycler Factor V Leiden Mutationsnachweis-Kits (Roche Group) ermittelt.

Tabelle 4. Factor-V-Leiden (FV)-Genotypisierung mittels Endpunkt-PCR und Pyrosequencing®-Analyse mit dem PSQ-96 SNP-Reagent Kit auf dem Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotyp	Anzahl
Wildtyp	17
FV G16191 A heterozygot	13
FV G16191 A homozygot	0

Vollblut wurde von 30 Einzelspendern entnommen, und aus jeweils 200 µl Vollblut wurde mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit genomische DNA aufgereinigt. Der Allelstatus am Locus FV G1691 A wurde mittels Endpunkt-PCR und Pyrosequencing-Analyse mit dem PSQ-96 SNP-Reagent Kit auf dem Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage) ermittelt.

Tabelle 5. Prothrombin (PT)-Genotypisierung mittels Endpunkt-PCR und Pyrosequencing-Analyse mit dem PSQ-Q96 SNP Reagent Kit auf dem Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotyp	Anzahl
Wildtyp	30
PT G20210A heterozygot	0
PT G20210A homozygot	0

Vollblut wurde von 30 Einzelspendern entnommen, und aus jeweils 200 µl Vollblut wurde mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit genomische DNA aufgereinigt. Der Allelstatus am Locus PT G20210A wurde mittels Endpunkt-PCR und Pyrosequencing-Analyse mit dem PSQ-96 SNP-Reagent Kit auf dem Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage) ermittelt.

Tabelle 6. Analyse der ApoE-Polymorphismen T112C und C158T mittels Endpunkt-PCR, Sequenzierung des Amplifikats mit dem BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit und Auftrennung auf dem ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer

Genotyp	Anzahl
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Sonstige	0

Vollblut wurde von 10 Einzelspendern entnommen, und aus jeweils 200 µl Vollblut wurde mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit genomische DNA aufgereinigt. Die Analyse der APoE-Polymorphismen T112C und C158T wurde mittels Endpunkt-PCR ausgeführt. Das Amplifikat wurde mit dem BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit sequenziert und auf dem ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific oder Tochtergesellschaften) aufgetrennt.

Tabelle 7. Auswirkungen des Elutionsvolumens und des in der PCR eingesetzten Eluatvolumens auf die PCR-Leistung

Elutionsvolumen	Eluatvolumen je 50 µl PCR*		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100 %	100 %	100 %
100 µl	100 %	100 %	97 %
200 µl	100 %	100 %	100 %

* Die dargestellten Werte zeigen die PCR-Trefferquoten und repräsentieren jeweils den Mittelwert aus 48 Proben.

Eluatstabilität

Lagerungstests von Eluaten, die mit dem QIAamp DNA Blood Mini Kit, einem im Laborgebrauch üblichen Kit mit identischer Technologie, erhalten wurden, haben ergeben, dass die von den QIAamp DNA Mini Spin Columns in Buffer AE eluierte DNA bei Lagerung bei 2 bis 8 °C oder –30 bis –15 °C 8 Jahre lang stabil war (Abbildung 7). Langzeitstudien zur Stabilität der mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit erhaltenen Eluate sind derzeit im Gange.

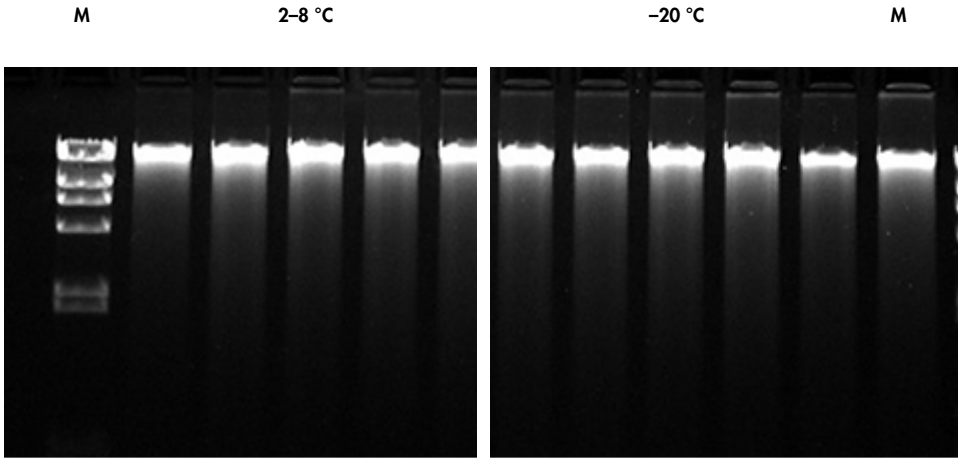




























Abbildung 7. Langfristige Stabilität der mit QIAamp Mini Spin-Säulen isolierten und aufgereinigten DNA. DNA wurde mit dem QIAamp DNA Blood Mini Kit aufgereinigt, in 200 µl Buffer AE eluiert und bei entweder 2–8 °C oder –20 °C 8 Jahre lang aufbewahrt. Die DNA-Proben wurden auf mit Ethidiumbromid gefärbtem Agarosegel analysiert. M: Marker.

Symbole

In der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Etikettierung können die folgenden Symbole verwendet werden:

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Inhalt ausreichend für <N> Reaktionen
	Verfallsdatum
	In-vitro-Diagnostikum
	Nach Lieferung
	Bei Lieferung offen; QIAamp Mini Spin-Säulen bei 2–8 °C lagern
	Katalognummer
	Chargennummer
	Materialnummer (Kennzeichnung von Komponenten)
	Komponenten
	Enthält
	Anzahl
	Internationale Artikelnummer
Rn	R steht für Revision der Gebrauchsanweisung, n ist die Revisionsnummer

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Zulässiger Temperaturbereich
	Hersteller
	Gebrauchsanweisung beachten
	Volumen
	Nach Zugabe von Ethanol in die Flasche das aktuelle Datum notieren
	Hinzugeben
	Lyophilisiert
	Rekonstituieren in
	Ethanol
	Guanidinhydrochlorid
	Subtilisin
	Führt zu
	Gebrauchsanweisung beachten
	Wichtiger Hinweis

Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Für 50 DNA-Präparationen: QIAamp Mini Spin-Säulen, VacConnectors, QIAGEN Protease, Reagenzien, Puffer und Entnahmeröhrchen	61104
Zugehörige Produkte		
QIAcube Connect MDx*	Gerät und 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit	9003070
Zubehör		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	Vakuumverteiler zur Verarbeitung von 1–24 Spin-Säulen: QIAvac 24 Plus Vakuumverteiler, Luer-Stopfen und Schnellkupplungen	19413
Vacuum Pump†	Universal-Vakuumpumpe	84020
VacConnectors†	500 Einweg-Verbindungsstücke zur Verwendung mit QIAamp Spin-Säulen auf Luer-Ansätzen	19407
Rotor Adapters	Für 240 Präparationen: 240 Einmal-Rotoradapter und 240 Elutionsröhrchen (1,5 ml); zur Verwendung mit dem QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Halter für 12 Einmal-Rotoradapter; zur Verwendung mit dem QIAcube	990392

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
Sample Tubes CB	1000 konische Röhrchen mit Schraubdeckel, ohne Stehrand (2 ml), zur Verwendung mit dem QIAcube und dem QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Zum Beladen des QIAcube Schüttlergestells	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Reagenzflaschen (30 ml) mit Deckel; 6er-Packung; zur Verwendung mit dem QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Einmal-Filterspitzen in Racks; (8 x 128) Zur Verwendung mit dem QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Einmal-Filterspitzen mit weiter Öffnung in Racks; (8 x 128); nicht für alle Protokolle erforderlich Zur Verwendung mit dem QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Einmal-Filterspitzen in Racks; (8 x 128) Zur Verwendung mit dem QIAcube und dem QIASymphony SP/AS Gerät	990332

* Der QIAcube Connect MDx ist nicht in allen Ländern erhältlich. Für weitere Details kontaktieren Sie bitte den Technischen Service von QIAGEN.

† Zur Verwendung mit Vakuumprotokollen.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Haftungsausschlüsse finden Sie im Handbuch oder Benutzerhandbuch des jeweiligen QIAGEN-Kits. Handbücher und Benutzerhandbücher zu QIAGEN-Kits sind unter www.qiagen.com verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Bearbeitungshistorie des Dokuments

Revision	Beschreibung
R2, 01/2021	<p>Aktualisierungen in den Abschnitten Automatisierte Aufreinigung auf dem QIAcube/QIAcube Connect MDx, Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen und Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben mit einer Mikrozentrifuge oder dem QIAcube/QIAcube.</p> <p>Referenzen zum QIAcube Connect MDx und seinem Zubehör hinzugefügt.</p> <p>Verweis auf die CD im Abschnitt Kit-Inhalt entfernt.</p> <p>Redaktionelle und Layout-Änderungen.</p>

Diese Seite wurde absichtlich leer gelassen.

Diese Seite wurde absichtlich leer gelassen.

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Mit der Verwendung dieses Produkts erkennen Käufer oder Benutzer des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den mit dem Produkt und diesem Handbuch bereitgestellten Protokollen und nur mit den Komponenten, die im Panel mitgeliefert werden, verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen ihrer Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zu den Panels gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zu den Panels gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der mit dem Produkt, diesem Handbuch, bereitgestellten und in zusätzlichen, unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von QIAGEN-Benutzern für andere QIAGEN-Benutzer zur Verfügung gestellt. Diese Protokolle wurden von QIAGEN nicht eingehend geprüft oder optimiert. QIAGEN übernimmt für diese Protokolle keine Garantie und garantiert auch nicht, dass sie keine Rechte Dritter verletzen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieses Panel und/oder die mit diesem Panel durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieses Panel und die zugehörigen Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Panels stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihr bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines ihrer geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Panel und/oder seinen Komponenten entstehen. Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen finden Sie im Internet unter www.qiagen.com.

Marken: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); BD®, Vacuainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette®, Greiner Bio-One® (Greiner Bio-One GmbH); Eppendorf®, Thermomixer® (Eppendorf AG); LightCycler® (Roche Group); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.); ABI PRISM®, *AllSer*™, BigDye®, DYNAL® (Thermo Fisher Scientific oder Tochtergesellschaften). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Bestellungen www.qiagen.com/shop | Technischer Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com