2021 년 1 월

QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit 사용 설명서(안내서)

버전 2

IVD

체외 진단용

CE

REF 61104

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

R2 MAT 1122788KR

목차

용도 5

설명 및 원리 6

- 혈액 세포 용해 6
- QIAamp Mini 스핀 컬럼 막에 유전체 DNA 결합 6
- QIAcube/QIAcube Connect MDx 에서의 자동 정제 7
- 요약 및 설명 10

제공물 11

- 키트 내용물 11
- 필요하지만 제공되지 않는 재료 12

경고 및 사전 주의사항 14

- 안전성 정보 14

시약 보관 및 취급 16

시료 보관 및 취급 16

- 잔류 오염물질 제거 17
- 순수 유전체 DNA 용출 17

중요 참고사항 18

- 프로토콜 시작 전 중요 사항 18
- 시약 및 완충액 준비 18
- QIAamp Mini 스핀 컬럼 취급 20
- 유전체 DNA 용출 20
- 유전체 DNA 의 수율 및 품질 21
- QIAvac 24 Plus 진공 시스템 준비 21

절차 23
프로토콜: 진공 시스템을 사용하여 혈액 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제 ... 23
프로토콜: 마이크로 원심분리기 또는 QIAcube/QIAcube Connect MDx 를 사용하여 혈액 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제 27
정도 관리 30
제한 사항 30
성능 특징 31
기호 36
주문 정보 38
문서 개정 이력 40

용도

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 는 실리카 막 기술(QIAamp 기술)을 사용하여 생물학적 시료에서 유전체 DNA 를 분리 및 정제하는 시스템입니다.

이 제품은 분자생물학 기법에 대한 교육을 받은 기술자 및 의사와 같은 전문 사용자가 사용해야 합니다.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 는 체외 진단용입니다.

설명 및 원리

각 QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차는 4 단계로 구성되어 있습니다.

- 혈액 검체 내 세포 용해
- QIAamp Mini 스핀 컬럼의 막에 세포 용해물 내 유전체 DNA 결합
- 막 세척
- 막으로부터 유전체 DNA 용출

이 안내서는 2 가지 대안 QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차를 포함하고 있으며 이는 원심분리를 필요로 하는 절차와 원심 분리 및 진공 시스템을 필요로 하는 진공 절차입니다(순서도, 9 페이지 참조). 스핀 절차는 QIAcube 및 QIAcube Connect MDx 에서 자동화할 수 있습니다.

혈액 세포 용해

검체를 고온 및 변성 조건에서 분리합니다. 용해는 QIAGEN Protease(QP) 및 용해 완충액(AL)가 있는 상태에서 실시합니다.

QIAamp Mini 스핀 컬럼 막에 유전체 DNA 결합

QIAamp Mini 스핀 컬럼 막으로의 유전체 DNA 결합을 최적화하기 위해, 먼저 에탄올을 용해물에 첨가합니다. 그리고 각 용해물을 QIAamp Mini 스핀 컬럼에 넣으면 용해물이 진공 압력 또는 원심분리력에 의해 유인되면서 유전체 DNA 가 실리카 막에 흡착됩니다.

QIAcube/QIAcube Connect MDx 에서의 자동 정제

QIAcube 및 QIAcube Connect MDx 는 핵산의 자동 분리 및 정제를 수행합니다. 단일 실행당 최대 12 개의 검체를 처리할 수 있습니다.

QIAcube 및 QIAcube Connect MDx 를 사용하는 검체 준비는 수동 절차(즉, 용해, 결합, 세척 및 용출)와 동일한 단계를 따르므로 고품질 DNA 의 정제를 위해 QIAamp DSP DNA Mini Kit 를 계속 사용할 수 있습니다.

QIAcube 또는 QIAcube Connect MDx 기기에서 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 자동화하는 경우, 기기는 자동 피펫팅으로 인한 무용 용량, 증발 및 추가적인 시약 소모로 인해 50 개 미만의 검체를 처리할 수 있습니다. QIAGEN 은 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 수동으로 사용했을 때 50 개의 검체 준비만 보장합니다.

그림 1. QIAcube.

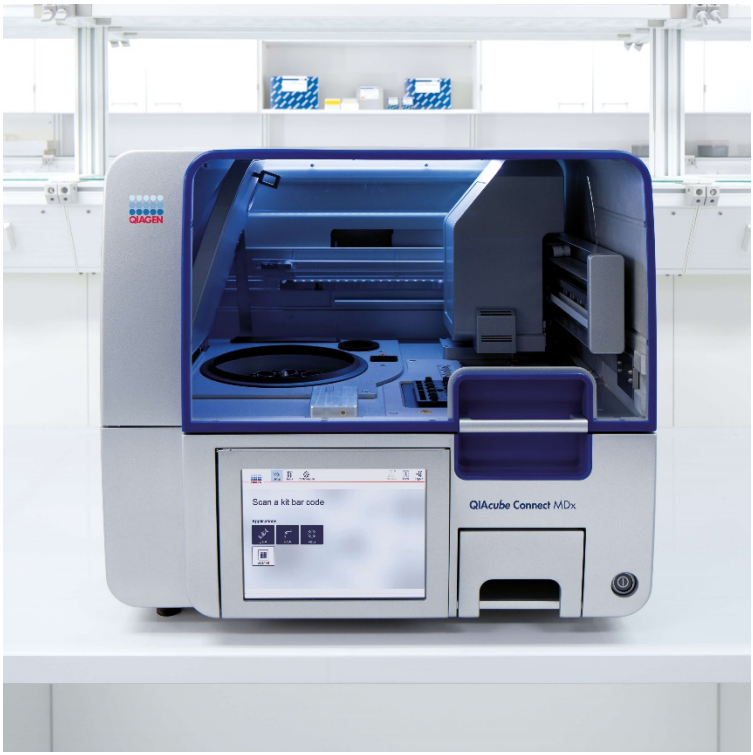
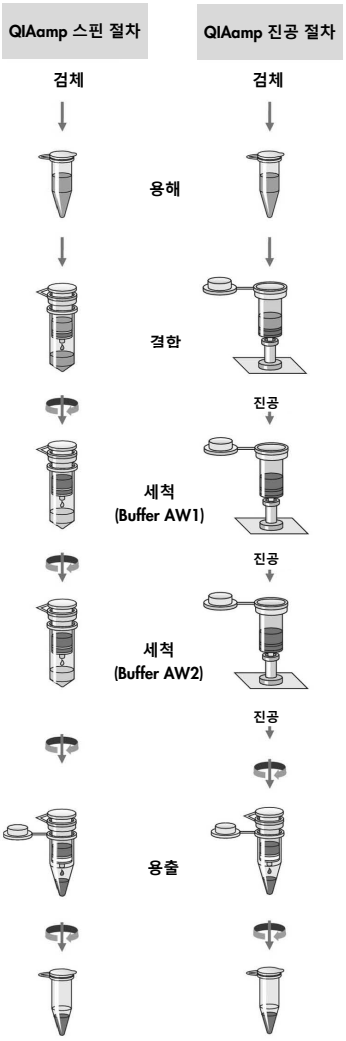


그림 2. QIAcube Connect MDx.

QIAamp DSP DNA Blood Mini 스핀 및 진공 절차



시작하기 전에 프로토콜(23 페이지 및 27 페이지)의 내용을 숙지하십시오.

LT 에 20 µl QP, 200 µl 의 검체를 첨가하고 15 초간 200 µl AL 휘저음.
56°C(± 1°C)에서 10 분(± 1 분) 동안 배양
200 µl 의 에탄올 첨가.
15 초간 휘저음.

용해물을 QIAamp Mini 스핀 컬럼으로 옮김.

스핀 절차: 1 분 동안 6000 x *g* 로 원심분리.

진공 절차: 진공 적용.

스핀 절차: QIAamp Mini 스핀 컬럼을 새 WT 에 넣고, 500 µl AW1 을 첨가한 뒤 1 분 동안 6000 x *g* 로 원심분리.

진공 절차: 750 µl AW1 을 첨가하고 진공 적용.

스핀 절차: QIAamp Mini 스핀 컬럼을 새 WT 에 넣고, 500 µl AW2 를 첨가한 뒤 1 분 동안 최대 속도 (약 20,000 x *g* 또는 14,000 rpm)로 원심분리.

진공 절차: 750 µl AW2 를 첨가하고 진공 적용.

QIAamp Mini 스핀 컬럼을 WT 에 넣음.

3 분 동안 최대 속도(약 20,000 x *g* 또는 14,000 rpm)로 원심분리.

QIAamp Mini 스핀 컬럼을 ET 에 넣음.

50 ~ 200 µl AE 를 첨가하고 1 분 동안 배양.

1 분 동안 6000 x *g* 로 원심분리.

요약 및 설명

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 는 인정된 기술을 사용하여 200µl 전혈로부터 빠르고 쉽게 유전체 DNA 를 분리합니다.

여러 혈액 검체의 동시 처리를 위해 설계된 QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차는 즉시 사용 가능한 정제된 DNA 를 산출합니다. 해당 절차는 구연산염 또는 EDTA 로 처리된 신선하거나 냉동된 전혈 및 혈액과 함께 사용하기에 적합합니다.

이 간단한 QIAamp DSP 스핀 및 진공 절차는 여러 검체의 동시 처리에 적합합니다. 일부 QIAamp 스핀 절차는 표준화 및 사용 편의성을 높이기 위해 QIAcube 또는 QIAcube Connect MDx 에서 완전 자동화할 수 있습니다(7 페이지).

백혈구의 사전 분리는 필요하지 않습니다. 해당 절차는 페놀/클로로포름 추출이나 알코올 침전을 필요로 하지 않으며 최소한의 사용자 개입만을 필요로 하여 잠재적 감염성 검체를 안전하게 취급할 수 있습니다. 이 절차는 검체 간 교차 오염을 최소화하도록 고안되었습니다. 정제된 DNA 는 PCR 또는 기타 공정에 사용할 수 있으며, 또는 나중에 사용하기 위해 –25°C ~ –15°C 에 보관할 수 있습니다.

제공물

키트 내용물

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
카탈로그 번호			61104
준비 수			50*
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes(세척 튜브 장착 QIAamp Mini Spin Column)(WT)(2 ml)	COL	50
ET	Elution Tubes(용출 튜브)(1.5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors	VAC CON	50
LT	Lysis Tubes(용해 튜브)(1.5 ml)	LYS TUBE	50
WT	Wash Tubes(세척 튜브)(2 ml)	WASH TUBE	3 x 50
AL	Lysis Buffer†(용해 완충액)	LYS BUF	12 ml
AW1	Wash Buffer 1†(세척 완충액 1)(농축액)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2	Wash Buffer 2‡(세척 완충액 2)(농축액)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AE	Elution Buffer‡(용출 완충액)	ELU BUF	25 ml
PS	Protease Solvent‡(단백분해효소 용액)	QPROT SOLV	2 ml
QP	QIAGEN Protease§	QPROT	바이알 1 개
–	사용 지침(안내서)		1

* QIAcube 또는 QIAcube Connect MDx 기기에서 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 자동화하는 경우, 기기는 자동 피펫팅으로 인한 무용 용량, 증발 및 추가적인 시약 소모로 인해 50 개 미만의 검체를 처리할 수 있습니다. QIAGEN 은 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 수동으로 사용했을 때 50 개의 검체 준비만 보장합니다.

† 염산 구아니딘이 함유되어 있습니다. 표백제를 포함하는 소독제와 같이 사용할 수 없습니다. 자세한 내용은 14 페이지의 안전성 정보를 참조하십시오.

‡ 방부제 역할을 하는 아지드화 나트륨을 함유하고 있습니다.

§ 재부유량 1.2 ml. 19 페이지 "시약 및 완충액 준비"를 참조하십시오.

필요하지만 제공되지 않는 재료

화학물질로 작업할 때 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용하십시오. 자세한 정보는 제품 공급업체에서 구할 수 있는 적절한 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오.

스핀 및 진공 절차의 경우

- 에탄올(96 ~ 100%)
- 피펫 * 및 피펫 팁(교차 오염을 방지하려면 에어로졸 막이 있는 피펫 팁의 사용이 강력히 권장됨)
- 일회용 장갑
- 56°C 에서 검체를 용해하기 위한 가열 블록* (당사는 1.5 ml 마이크로 시험 튜브용 서모블록과 Eppendorf® Thermomixer® 컴포트를 사용할 것을 권장합니다 †)
- 마이크로 원심분리기*
- 측정 실린더(50 ml)
- 교반기

진공 절차에만 해당

- QIAvac 24 Plus 진공 시스템(카탈로그 번호 19413) 또는 이와 동등한 것
- VacConnectors(카탈로그 번호 19407)
- VacValve(카탈로그 번호 19408)
- QIAvac Connecting System(카탈로그 번호 19419)
- Vacuum Pump(카탈로그 번호 84020)
- Vacuum Regulator(카탈로그 번호 19530)

* QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차에서 적절히 처리되도록 하려면 기기(예: 피펫 및 가열 블록)를 제조업체의 권장 사항에 따라 보정해야 합니다.

† 이는 공급업체의 모든 목록이 아니며, 생물학 물품을 공급하는 주요 판매사들도 다수 포함되지 않았습니다.

자동 절차에만 해당

- Rotor Adapters, 카탈로그 번호 990394
- Rotor Adapter Holder, 카탈로그 번호 990392
- Sample Tubes CB, 카탈로그 번호 990382(검체 투입 튜브)
- Shaker Rack Plugs, 카탈로그 번호 9017854
- Reagent Bottles, 30 ml, 카탈로그 번호 990393
- Filter Tips, 1000 µl, 카탈로그 번호 990352
- Filter Tips, 200 µl, 카탈로그 번호 990332
- SafeSeal Tube, 1.5 mL, Sarstedt®(카탈로그 번호 72.706)

경고 및 사전 주의사항

사용자 및/또는 환자가 확인된 기기와 관련하여 발생한 중대한 사건을 제조업체 및 규제 당국에 보고해야 할 수 있다는 점에 유의하십시오.

안전성 정보

화학물질로 작업할 때 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용하십시오. 자세한 정보는 관련 안전보건자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. 해당 정보는 www.qiagen.com/safety 에서 편리하고 용량이 작은 PDF 형식으로 온라인에서 찾아볼 수 있으며, 해당 페이지에서 각 QIAGEN 키트 및 키트 구성품에 대한 SDS 를 찾고 조회하고 인쇄할 수 있습니다.

주의: 검체 준비 과정의 폐기물에 표백제나 산성 용액을 직접 가하지 마십시오.

용해 완충액(AL) 및 세척 완충액 1(AW1)은 표백제와 결합할 때 반응성 높은 화합물을 형성할 수 있는 염산 구아니딘을 함유하고 있습니다. 이런 완충액이 들어 있는 액체를 흘린 경우, 적절한 실험실 세제 및 물로 청소하십시오. 흘린 액체에 감염체가 들어 있을 가능성이 있으면 해당 부분을 먼저 실험실 세제 및 물로 청소한 후 1%(v/v)의 차아염소산 나트륨으로 청소하십시오. 완충액 병이 손상되었거나 새면 사람의 부상을 피할 수 있도록 병을 폐기할 때 장갑과 보안경을 착용하십시오.

QIAGEN 은 QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차로 생성된 액체 폐기물의 잔류 감염성 물질에 대해 테스트하지 않았습니다. 잔류 감염성 물질로 인한 액체 폐기물의 오염은 가능성이 낮지만 완전히 배제할 수는 없습니다. 따라서 액체 폐기물은 감염성으로 간주하고, 지역 안전 규정에 따라 취급 및 폐기해야 합니다.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 의 구성품에는 다음과 같은 위험 및 안전성 문구가 적용됩니다.

용해 완충액(AL) 및 세척 완충액 1(AW1)

내용물: 염산 구아니딘. 경고! 삼키거나 흡입하면 해롭습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 심각한 눈 자극을 일으킵니다. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오.

QIAGEN Protease(QP)

내용물: 서브틸리신. 위험! 삼키면 해롭습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 심각한 눈 부상을 유발합니다. 흡입 시 알러지 또는 천식 증상이나 호흡에 어려움을 초래할 수 있습니다. 호흡기 자극을 초래할 수 있습니다. 먼지/연기/가스/연무/증기/스프레이를 흡입하지 마십시오. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오. 호흡기 보호구를 착용합니다. 눈에 묻은 경우: 물로 몇 분 동안 주의하여 씻어냅니다. 콘택트 렌즈를 끼고 있으며 쉽게 뺄 수 있는 경우 빼냅니다. 계속 씻어냅니다. 노출 또는 우려 시: 즉시 중독 센터 또는 의사에게 연락하십시오. 피해자를 신선한 공기의 장소로 옮기고 호흡하기 편안한 자세로 휴식을 취하게 하십시오.

시약 보관 및 취급

QIAamp Mini 스핀 컬럼은 도착 후 2 ~ 8°C 에서 보관해야 하며 키트 상자에 나와 있는 유통 기한까지 사용할 수 있습니다.

모든 완충액은 키트 상자의 유통 기한까지 실온(15 ~ 25°C)에서 보관할 수 있습니다.

동결 건조된 QIAGEN Protease(QP)는 성능에 영향 없이 실온(15 ~ 25°C)에서 키트 유효 기한까지 보관할 수 있습니다. 재구성된 QIAGEN Protease 는 2 ~ 8°C 에서 보관할 시 최대 1 년간(단, 키트 유효 기한까지만) 안정적입니다.

재구성된 세척 완충액 1(AW1) 및 재구성된 세척 완충액 2(AW2)는 실온(15 ~ 25°C)에서 보관 시 최대 1 년간(단, 키트 유효 기한까지만) 안정적입니다.

시료 보관 및 취급

냉동된 검체의 해동 중 생성되는 동결침전제제는 QIAamp Mini 스핀 컬럼 막을 막습니다. 동결침전제제가 육안으로 보이면, 검체 흡인 시 이를 흡인하지 않도록 합니다. 동결 및 해동 검체가 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 사용한 DNA 정제에 미치는 영향이 확인되었습니다(그림 3 참조).

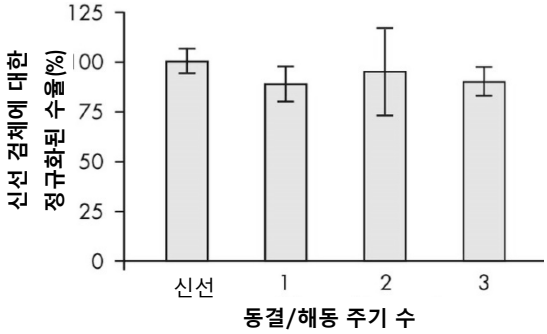


그림 3. 혈액 검체의 동결 및 해동 영향. EDTA 처리 혈액은 최대 3 회까지 동결 및 해동되었고, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 사용한 DNA 정제에 사용되었습니다. 계산된 DNA 수율은 신선한 검체로부터의 수율(100%)로 정규화됩니다. 그래프의 각 막대는 32 개 복제물부터의 결과를 나타냅니다(평균 ± 표준편차).

QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차에서 정제되는 DNA 양은 각 혈액 검체 백혈구 함량에 따라 다릅니다. 스핀 또는 진공 절차를 사용하여, 건강한 공여자의 200 µl 혈액 검체로부터 유전체 DNA 를 정제합니다. QIAamp DSP DNA Blood Mini 절차를 위한 혈액 검체를 수집하게 위해 다양한 다른 일차 튜브 및 항응고제를 사용할 수 있습니다(표 1).

표 1. 다양한 일차 튜브 및 항응고제를 사용하여 수집된 혈액 검체로부터의 DNA 에 대한 평균 상대 수율

일차 튜브	제조업체	카탈로그 번호	공칭 용량	평균 수율*
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
Vacuette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6.5 µg
Vacuette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6.3 µg

유전체 DNA 는 건강한 공여자의 200 µl 혈액 검체로부터 정제되었습니다(ml 당 4.0 ~ 9.0 x 10^6 cells).
* 각 일차 튜브의 경우, 평균 수율은 11 개의 3 중복 검체로부터 결정됩니다.

잔류 오염물질 제거

유전체 DNA 가 QIAamp Mini Spin Column 막에 결합된 상태에서도 세척 완충액 1(AW1) 및 세척 완충액 2(AW2) 순서로 세척하여 오염물질을 제거할 수 있습니다.

순수 유전체 DNA 용출

유전체 DNA 는 50 ~ 200 µl 용출 완충액(AE)를 사용하여 QIAamp Mini Spin Column 막으로부터 용출됩니다. 용출된 DNA 는 다양한 체외 진단 다운스트림 분석을 포함한 여러 다른 다운스트림 분석에 즉시 사용할 수 있습니다.

중요 참고사항

프로토콜 시작 전 중요 사항

- 키트를 받은 후 키트 구성품들이 손상되지 않았는지 확인하십시오. 블리스터 팩이나 완충액 병이 손상된 경우에는 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 문의하십시오. 액체가 누출된 경우 "안전성 정보"(14 페이지)를 참조하십시오. 손상된 키트 구성품은 키트 성능을 떨어뜨릴 수 있으므로 사용하지 마십시오.
- 액체를 옮기는 중에는 항상 피펫 팁을 교체하십시오. 교차 오염을 최소화하려면 에어로졸 막이 있는 피펫 팁을 사용하는 것이 좋습니다.
- 모든 원심 분리 단계는 실온(15 ~ 25°C)에서 수행됩니다.
- 항상 일회용 장갑을 사용하고 검체 물질이 묻지 않았는지 규칙적으로 확인하십시오. 장갑이 오염되었으면 폐기하십시오.
- 교차 오염을 최소화하려면 한 번에 한 개의 튜브만 개봉하십시오.
- 로트 번호가 동일하지 않으면 다른 키트의 구성품을 현재 사용 중인 키트와 함께 사용하지 마십시오.
- 키트 시약이 미생물로 오염되지 않도록 주의하십시오.
- 잠재적 감염성 물질로 인한 감염 위험을 최소화하기 위해 당사는 검체가 용해될 때까지 환기가 잘 되는 곳에서 작업할 것을 권장합니다.
- 이 키트는 체외 진단에 관한 실험실 운영 기준을 교육받은 사람만 사용해야 합니다.

시약 및 완충액 준비

- QIAGEN Protease 준비

  1.2ml 프로테아제 용제(PS)를 동결 건조된 QIAGEN Protease(QP)의 바이알에 첨가하고 조심스럽게 혼합합니다. 거품이 형성되지 않도록 바이알을 여러 차례 뒤집어서 혼합합니다. QIAGEN Protease(QP)가 완전히 용해되었는지 확인합니다.

  중요: QIAGEN Protease(QP)를 용해 완충액(AL)에 직접 넣지 마십시오.

- 세척 완충액 1 준비

  측정 실린더를 사용하여 에탄올(96 ~ 100%) 25 ml 를 19 ml 의 세척 완충액 1(AW1) 농축액이 들어있는 병에 넣습니다. 재구성된 세척 완충액 1(AW1)을 실온(15 ~ 25°C)에서 보관합니다.

  중요: 절차 시작 전에 항상 병을 여러 차례 뒤집어서 재구성된 세척 완충액 1(AW1)을 혼합합니다.

- 세척 완충액 2 준비

  측정 실린더를 사용하여 에탄올(96 ~ 100%) 30 ml 를 13 ml 의 세척 완충액 2(AW2) 농축액이 들어있는 병에 넣습니다. 재구성된 세척 완충액 2(AW2)을 실온(15 ~ 25°C)에서 보관합니다.

  중요: 절차 시작 전에 항상 병을 여러 차례 뒤집어서 재구성된 세척 완충액 2(AW2)를 혼합합니다.

- 용출 완충액 준비

  본 키트에는 용출 완충액(AE) 1 병이 제공됩니다. 용출 완충액(AE)의 오염을 방지하기 위해, 용출 완충액(AE)을 병에서 피펫팅할 때에는 에어로졸 막이 있는 피펫 팁을 사용하고 그 후 즉시 병의 캡을 다시 닫을 것을 강력히 권장합니다.

  중요: 용출 완충액(AE)은 보존 아지드화 나트륨을 함유하고 있으며, 이는 260 nm 에서 흡광도를 보입니다. 따라서 260 nm 에서 흡광도 측정으로 용출액 내 DNA 를 정량화할 때, 260 nm 및 280 에서 흡광도 측정으로 용출액 내 DNA 순도를 결정할 때, 또는 220 nm~350 nm 범위에서 흡광도를 스캔할 때, 공시료가 용출액과 동일한 농도의 아지드화나트륨을 함유하도록 해야 합니다. 예를 들어, 50 µl 용출액을 100 µl 물로 희석하여 흡광도 측정을 위한 용출액을 준비하는 경우, 50 µl 용출 완충액(AE)을 100 µl 물로 희석하여 공시료를 준비해야 합니다. 희석에는 신선한 증류수를 사용합니다.

QIAamp Mini 스핀 컬럼 취급

핵산 증폭 기술의 민감성 때문에 QIAamp Mini 스핀 컬럼을 취급할 때는 검체 준비 간 교차 오염을 피하기 위해 다음과 같은 예방 조치가 필요합니다.

- 검체 또는 용액을 QIAamp Mini 스핀 컬럼에 조심스럽게 넣습니다. 컬럼의 테두리에 묻지 않도록 주의하면서 검체를 QIAamp Mini 스핀 컬럼에 피펫팅합니다.
- 액체를 옮기는 중에는 항상 피펫 팁을 교체하십시오. 에어로졸 막이 있는 피펫 팁을 사용하는 것이 좋습니다.
- 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스핀 컬럼 막을 건드리지 마십시오.
- 모든 펄스 볼텍싱 단계가 끝나면 마이크로 원심분리기 튜브를 잠깐 원심 분리하여 뚜껑 안쪽의 액체 방울을 제거합니다.
- 한 번에 한 개의 QIAamp Mini 스핀 컬럼만 개봉하고, 에어로졸이 생성되지 않도록 주의하십시오.
- 전체 절차 중에 장갑을 끼십시오. 장갑과 검체가 접촉할 경우, 즉시 장갑을 교체하십시오.

유전체 DNA 용출

QIAamp Mini 스핀 컬럼으로부터 용출되는 DNA 의 양은 컬럼에 적용된 용출 완충액(AE)의 양보다 최대 20 µl 가 적을 수 있습니다. 회수되는 용출액의 양은 검체의 성질에 따라 다릅니다. 용출 완충액(AE)을 컬럼에 적용하기 전에 온도가 실온(15 ~ 25°C)이 되도록 해야 합니다. 용출된 DNA 는 용출 튜브(ET)에 수집합니다. 최대 4 주 동안 DNA 를 보관할 경우, 2 ~ 8°C 에서 보관할 것을 권장합니다. 장기 보관할 경우 –30 ~ –15°C 에서 보관할 것을 권장합니다.

유전체 DNA 의 수율 및 품질

분리된 유전체 DNA 의 수율 및 품질은 진단분자생물학의 모든 다운스트림 검출 절차에 적합합니다. 진단 분석은 제조사의 설명에 따라 실시해야 합니다.

QIAvac 24 Plus 진공 시스템 준비

QIAamp Mini 스핀 컬럼, VacConnector(VC), VacValve 를 정확하게 설정했는지 확인합니다(그림 4 참조).

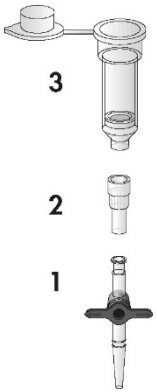


그림 4. 검체 진공 처리를 위한 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 구성품 조립. (**1**) VacValve (**2**) VacConnector(VC) (**3**) QIAamp Mini 스핀 컬럼

QIAvac 24 Plus 진공 시스템으로 진공 절차를 사용하는 경우, 검체가 헛갈리는 것을 방지하기 위해 그림 5 의 방식에 따라 용해 튜브(LT), 용출 튜브(ET), QIAamp Mini 스핀 컬럼에 라벨을 부착합니다(다음 페이지 참조). 이 그림을 복사하여 검체명과 함께 라벨로 부착할 수 있습니다. 다른 진공 시스템 또는 스핀 절차를 사용하는 경우, 유사한 방식을 사용할 것을 권장합니다.

날짜: _____

사용자: _____

실행 ID: _____

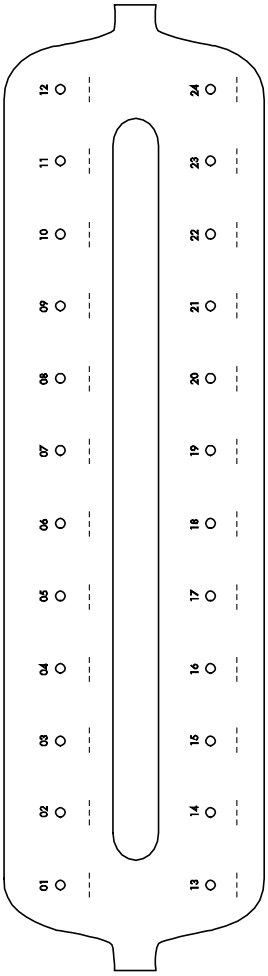


그림 5. QIAvac 24 Plus 진공 시스템에 사용 시 용해 튜브(LT), 용출 튜브(ET), QIAamp Mini 스핀 컬럼의 라벨 부착 방법.

절차

프로토콜: 진공 시스템을 사용하여 혈액 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제

QIAvac 24 Plus 진공 시스템과 같은 진공 시스템을 사용하여 EDTA 또는 구연산 처리된 200 µl 전혈 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제용.

시작 전 중요 사항

아래의 절차는 혈액 검체 1 개를 처리하는 방법을 명시하고 있습니다. 하지만 QIAvac 24 Plus 진공 시스템을 사용하면 동시에 최대 24 개의 검체를 처리할 수 있습니다.

시작하기 전 해야 할 일

- 혈액 검체 온도가 실온이 되도록 하고 잘 혼합되었는지 확인합니다.
- 용해 완충액(AL)에 침전물이 형성되었다면 56°C 에서 배양하여 용해시킵니다.
- 18 페이지의 "시약 및 완충액 준비"에 따라 세척 완충액 1(AW1)과 세척 완충액 2(AW2) 및 QIAGEN Protease(QP)를 준비하도록 합니다.
- 14 단계의 용출을 위해 용출 완충액(AE)을 실온에 맞춥니다.
- 4 단계에서 사용할 가열 블록을 56°C 로 설정합니다.
- 교차 오염을 최소화하기 위해 진공 시스템의 각 루어 어댑터에 VacConnector(VC)를 삽입합니다.
- QIAGEN 의 정도 관리 절차에서는 각 개별 키트 로트에 대해 기능적 키트 출고 검사를 적용합니다. 따라서 서로 다른 키트 로트의 시약을 혼합하지 말고, 서로 다른 시약 로트의 개별 시약을 혼합하지 마십시오.
- 진공 시스템의 폐기물 용기는 비어 있어야 하며 모든 커플링은 올바르게 연결되어 있도록 합니다.
- 진공 시스템의 자세한 사용 설명 및 특히 유지보수 방법은 함께 제공된 안내서를 참고하십시오.

절차

1. 20 µl 의 QIAGEN Protease(QP)를 용해 튜브(LT)로 피펫팅합니다.

   참고: 사용하기 전에 재구성된 단백분해효소의 유효 기한을 확인합니다.

2. 200 µl 의 혈액 검체를 용해 튜브(LT)에 첨가합니다.

3. 200 µl 의 용해 완충액(AL)을 용해 튜브(LT)에 첨가하고, 뚜껑을 닫은 후 15 초 동안 펄스 볼텍싱하여 혼합합니다.

   효율적인 용해를 위해서는 반드시 검체와 용해 완충액(AL)을 완전히 섞어서 균일한 용액을 만들어야 합니다.

   참고: 용해 완충액(AL)은 점성이 높으므로 주의하여 피펫팅하거나 적절한 피펫을 사용하여 반드시 정확한 양의 용해 완충액(AL)을 첨가해야 합니다.

   참고: QIAGEN Protease(QP)를 용해 완충액(AL)에 직접 넣지 마십시오.

4. 10 분(± 1 분) 동안 56°C(± 1°C)에서 배양합니다.

5. 용해 튜브(LT)를 ≥5 초 동안 최대 속도에서 원심분리하고 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.

6. 200 µl 의 에탄올(96 ~ 100%)을 용해 튜브(LT)에 넣고 뚜껑을 닫은 후 ≥15 초 동안 펄스 볼텍싱하여 완전히 혼합합니다.

7. 용해 튜브(LT)를 ≥5 초 동안 최대 속도에서 원심분리하고 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.

8. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 진공 시스템의 VacConnector(VC)에 삽입합니다. 주 진공 밸브(진공 펌프와 진공 매니폴드 사이)와 스크류 캡 밸브(진공 매니폴드의)가 닫혀 있는지 확인합니다. 진공 펌프를 켭니다.

   블리스터 안의 QIAamp Mini 스핀 컬럼이 들어 있는 세척 튜브(WT)(2 ml)를 폐기합니다.

   진공은 연결 시스템(사용하는 경우)에만 가해지며, 진공 매니폴드에는 가해지지 않습니다.

9. 7 단계에서 얻은 용해물 전체를 가장자리에 묻지 않도록 주의하여 QIAamp Mini 스핀 컬럼에 넣습니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스핀 컬럼 막을 건드리지 마십시오.

   참고: 여러 검체를 처리하는 경우, 한 번에 1 개의 용해 튜브(LT)만 여십시오.

10. 주 진공 밸브를 엽니다. 용해물이 QIAamp Mini 스핀 컬럼을 통과한 후, 주 진공 밸브를 닫고 진공 매니폴드의 스크류 캡 밸브를 열어서 매니폴드 내 진공을 해제합니다. 진공이 매니폴드에서 해제된 후 스크류 캡 밸브를 닫습니다.

    주 진공 밸브를 닫으면 진공은 연결 시스템(사용된 경우)에만 가해지며 진공 매니폴드에는 가해지지 않습니다.

    참고: 진공을 빠르게 배출하기 위해 진공 매니폴드의 스크류 캡 밸브를 사용합니다.

    참고: 동시에 여러 개의 QIAamp Mini 스핀 컬럼을 처리하는 경우에는 이 진공 단계의 시간을 단축하기 위해 용해물이 통과한 후 각 컬럼의 VacValve 를 닫을 것을 권장합니다.

    참고: 10 분 후 용해물이 완전히 막을 통과하지 않았다면, QIAamp Mini 스핀 컬럼을 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣은 후, 뚜껑을 닫고 6000 x *g*(8000 rpm)로 3 분 동안 또는 용해물이 완전히 통과될 때까지 원심분리합니다. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 다른 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고 29 페이지, 10 단계로 진행합니다.

    참고: 용해물이 여전히 원심분리 중 막을 통과하지 않는다면, 검체를 폐기하고 새 검체 물질을 사용하여 28 페이지의 1 단계부터 분리 및 정제를 반복합니다.

11. 750 µl 의 세척 완충액 1(AW1)을 테두리에 묻지 않도록 주의하여 QIAamp Mini 스핀 컬럼에 넣습니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스핀 컬럼 막을 건드리지 마십시오. 컬럼 뚜껑을 열어 둔 상태로 주 진공 밸브를 엽니다. 모든 세척 완충액 1(AW1)이 QIAamp Mini 스핀 컬럼을 통과한 후, 주 진공 밸브를 닫고 스크류 캡 밸브를 열어서 매니폴드 내 진공을 해제합니다. 진공이 매니폴드에서 해제된 후 스크류 캡 밸브를 닫습니다.

12. 750 µl 의 세척 완충액 2(AW2)를 테두리에 묻지 않도록 주의하여 QIAamp Mini 스핀 컬럼에 넣습니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스핀 컬럼 막을 건드리지 마십시오. 컬럼 뚜껑을 열어 둔 상태로 주 진공 밸브를 엽니다. 모든 세척 완충액 2(AW2)이 QIAamp Mini 스핀 컬럼을 통과한 후, 주 진공 밸브를 닫고 스크류 캡 밸브를 열어서 매니폴드 내 진공을 해제합니다. 진공이 매니폴드에서 해제된 후 스크류 캡 밸브를 닫습니다.

13. QIAamp Mini 스핀 컬럼의 뚜껑을 닫고 진공 시스템에서 분리한 후 VacConnector(VC)를 폐기합니다. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고, 최대 속도(약 20,000 x *g* 또는 14,000 rpm)로 3 분 동안 원심분리하여 막을 완전히 건조시킵니다.

    참고: 원심분리기를 이용한 건조 과정을 건너뛰면 다운스트림 분석이 억제될 수 있습니다.

14. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 깨끗한 용출 튜브(ET)에 넣고, 여과액이 들어 있는 세척 튜브(WT)는 폐기합니다. QIAamp Mini 스핀 컬럼의 뚜껑을 조심스럽게 열고 50 ~ 200 µl 의 용출 완충액(AE)을 막 중앙에 가합니다. 뚜껑을 닫고 실온에서 1 분 동안 배양합니다. 6000 x *g*(8000 rpm)로 1 분 동안 원심분리하여 DNA 를 용출합니다.

    참고: 본 프로토콜을 실시한 후에는 진공 시스템에 대한 유지보수 절차를 실시합니다(자세한 사항은 진공 시스템과 함께 제공된 안내서 참고).

프로토콜: 마이크로 원심분리기 또는 QIAcube/QIAcube Connect MDx 를 사용하여 혈액 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제

마이크로 원심분리기를 사용하여 또는 QIAcube 또는 QIAcube Connect MDx 에서 자동으로 EDTA 또는 구연산 처리된 200 µl 전혈 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제용.

시작 전 중요 사항

- 아래의 절차는 혈액 검체 1 개를 처리하는 방법을 명시하고 있습니다. 그러나, 동시에 여러 검체를 처리할 수 있으며 그 수는 사용하는 마이크로 원심분리기의 용량에 따라 다릅니다.
- QIAcube 또는 QIAcube Connect MDx 기기에서는 2 ~ 10 개 또는 12 개 검체의 자동 처리를 수행할 수 있습니다.
- 자동의 경우 프로토콜 시트(QIAcube)나 소프트웨어 화면(QIAcube Connect MDx) 및 *QIAcube 또는 QIAcube Connect MDx 사용 설명서*의 지침을 따릅니다.

시작하기 전 해야 할 일

- 혈액 검체 온도가 실온이 되도록 하고 잘 혼합되었는지 확인합니다.
- 용해 완충액(AL)에 침전물이 형성되었다면 56°C 에서 배양하여 용해시킵니다.
- 18 페이지의 "시약 및 완충액 준비"에 따라 세척 완충액 1(AW1)과 세척 완충액 2(AW2) 및 QIAGEN Protease(QP)를 준비하도록 합니다.
- 15 단계의 용출을 위해 용출 완충액(AE)을 실온에 맞춥니다.
- 4 단계에서 사용할 가열 블록을 56°C 로 설정합니다.
- QIAGEN 의 정도 관리 절차에서는 각 개별 키트 로트에 대해 기능적 키트 출고 검사를 적용합니다. 따라서 서로 다른 키트 로트의 시약을 혼합하지 말고, 서로 다른 시약 로트의 개별 시약을 혼합하지 마십시오.

절차

- 마이크로 원심분리기를 이용한 수동 절차의 경우 1 ~ 15 단계를 따릅니다.
- 이 절차는 3 가지 다른 버전으로 자동화할 수 있습니다.
  - 용출량: 100 µl 용출량을 이용한 100 µl 완전 자동화(1 단계부터 시작)
  - 용출량: 200 µl 용출량을 이용한 200 µl 완전 자동화(1 단계부터 시작)
  - 수동 용해: 오프 보드 수동 용해를 이용한 부분 자동화(5 단계부터 시작)

1. 20 µl 의 QIAGEN Protease(QP)를 용해 튜브(LT)로 피펫팅합니다.

   참고: 사용하기 전에 재구성된 단백분해효소의 유효 기한을 확인합니다.

2. 200 µl 의 혈액 검체를 용해 튜브(LT)에 첨가합니다.
3. 200 µl 의 용해 완충액(AL)을 용해 튜브(LT)에 첨가하고, 뚜껑을 닫은 후 15 초 동안 펄스 볼텍싱하여 혼합합니다.

   효율적인 용해를 위해서는 반드시 검체와 용해 완충액(AL)을 완전히 섞어서 균일한 용액을 만들어야 합니다.

   참고: 용해 완충액(AL)은 점성이 높으므로 주의하여 피펫팅하거나 적절한 피펫을 사용하여 반드시 정확한 양의 용해 완충액(AL)을 첨가해야 합니다.

   참고: QIAGEN Protease(QP)를 용해 완충액(AL)에 직접 넣지 마십시오.

4. 10 분(± 1 분) 동안 56°C(± 1°C)에서 배양합니다.
5. 용해 튜브(LT)를 ≥5 초 동안 최대 속도에서 원심분리하고 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.

   참고: 수동 용해(1 ~ 5 단계)가 오프 보드로 수행되는 경우, 수동 용해에 대한 프로토콜을 이용하여 QIAcube 또는 QIAcube Connect MDx 에서 다음 단계 (6 ~ 15 단계)를 자동화할 수 있습니다.

6. 200 µl 의 에탄올(96 ~ 100%)을 용해 튜브(LT)에 넣고 뚜껑을 닫은 후 ≥15 초 동안 펄스 볼텍싱하여 완전히 혼합합니다.
7. 용해 튜브(LT)를 ≥5 초 동안 최대 속도에서 원심분리하고 뚜껑 안쪽에서 액체 방울을 제거합니다.

8. *7* 단계에서 얻은 용해물 전체를 가장자리에 묻지 않도록 주의하여 QIAamp Mini 스핀 컬럼에 넣습니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스핀 컬럼 막을 건드리지 마십시오.

   참고: 여러 검체를 처리하는 경우, 한 번에 1 개의 용해 튜브(LT)만 여십시오.

9. QIAamp Mini 의 뚜껑을 닫고 약 6000 x *g* 로 1 분간 원심분리합니다. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고 여과액이 들어 있는 튜브는 폐기합니다.

   참고: 6000 x *g*(8000 rpm)로 원심분리 후 용해물이 완전히 막을 통과하지 않았다면, 최대 속도(최대 20,800 x *g*)로 1 분 동안 다시 원심분리합니다.

   참고: 용해물이 여전히 원심분리 중 막을 통과하지 않는다면, 검체를 폐기하고 새 검체 물질을 사용하여 28 페이지의 1 단계부터 분리 및 정제를 반복합니다.

10. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 조심스럽게 열고 테두리에 묻지 않도록 주의하면서 500 µl 의 세척 완충액 1(AW1)을 첨가합니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스핀 컬럼 막을 건드리지 마십시오.

11. QIAamp Mini 의 뚜껑을 닫고 약 6000 x *g* 로 1 분간 원심분리합니다. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고 여과액이 들어 있는 튜브는 폐기합니다.

12. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 조심스럽게 열고 테두리에 묻지 않도록 주의하면서 500 µl 의 세척 완충액 2(AW2)를 첨가합니다. 피펫 팁으로 QIAamp Mini 스핀 컬럼 막을 건드리지 마십시오.

13. QIAamp Mini 스핀 컬럼의 뚜껑을 닫고 최대 속도(약 20,000 x *g* 또는 14,000 rpm)로 1 분간 원심분리합니다. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 깨끗한 세척 튜브(WT)에 넣고, 여과액이 들어 있는 튜브는 폐기합니다.

14. 최대 속도(약 20,000 x *g* 또는 14,000 rpm)로 3 분 동안 원심분리하여 막을 완전히 건조시킵니다.

    참고: 원심분리기를 이용한 건조 과정을 건너뛰면 다운스트림 분석이 억제될 수 있습니다.

15. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 깨끗한 용출 튜브(ET)에 넣고, 여과액이 들어 있는 세척 튜브(WT)는 폐기합니다. QIAamp Mini 스핀 컬럼의 뚜껑을 조심스럽게 열고 50 ~ 200 µl 의 용출 완충액(AE)을 막 중앙에 가합니다. 뚜껑을 닫고 실온에서 1 분 동안 배양합니다. 약 6000 x *g*(8000 rpm)로 1 분 동안 원심분리하여 DNA 를 용출합니다.

    중요 참고사항: 모든 자동 절차의 경우, 실행을 완료한 후 바로 기기에서 용출액을 꺼내 적절히 보관합니다.

정도 관리

QIAGEN 의 ISO 인증 품질 관리 시스템에 따라 QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 의 각 로트는 제품 품질의 일관성을 보장하기 위해 사전 결정된 사양에 대해 테스트됩니다.

제한 사항

이 시스템의 성능은 전혈을 사용하여 유전체 DNA 의 분리에 대해 검증되었습니다.

실험실에서 사용되지만 QIAGEN 성능 연구에서 다루지 않는 모든 절차에 대해 시스템 성능을 검증하는 것은 사용자의 책임입니다.

진단 결과에 부정적인 영향을 미칠 위험을 최소화하려면 다운스트림 공정에 대한 적절한 대조물질을 사용해야 합니다. 추가적인 검증을 위해서는 ICH Q2(R1) 분석 절차 검증: 텍스트 및 방법론(ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology)에 있는 의약품국제조화회의(International Conference on Harmonization of Technical Requirements, ICH)의 지침이 권장됩니다.

생성된 모든 진단 결과는 다른 임상 또는 실험실 결과와 함께 해석해야 합니다.

성능 특징

정제된 DNA 의 수율

QIAamp DSP DNA Blood Mini 진공 절차를 사용한 DNA 수율의 선형 범위는 백혈구 수가 3.8 x 10^6 ~ 1.34 x 10^7 cells/ml 인 건강한 공여자의 혈액에 대해 결정되었습니다(그림 6 참조).

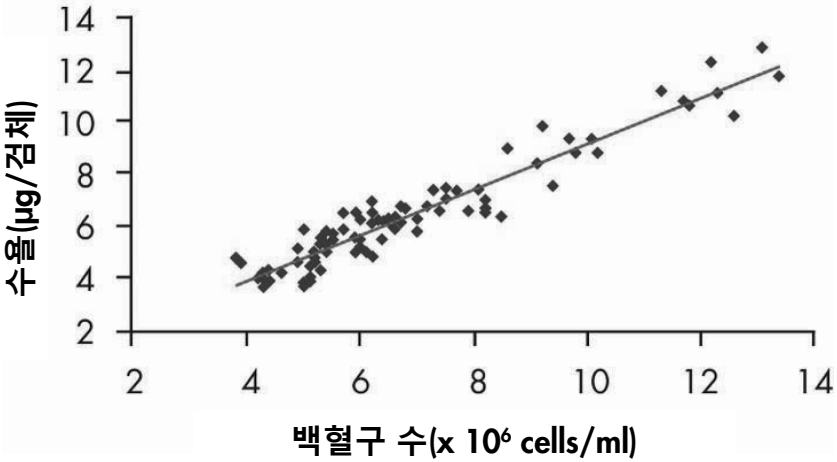


그림 6. 200 µl 용출량으로 QIAamp DSP DNA Blood Mini 진공 절차를 사용한 DNA 수율의 선형 범위. 건강한 공여자의 백혈구 수가 결정되었고 그 범위는 3.8 x 10^6 ~ 1.34 x 10^7 cells/ml 였습니다. DNA 는 200 µl 용출량으로 QIAamp DSP DNA Blood Mini 진공 절차를 사용하여 혈액 검체로부터 정제되었습니다. 87 개 3 중복 검체가 처리되었습니다.

다운스트림 분석에서의 성능

용출된 유전체 DNA 는 다양한 체외 진단 다운스트림 분석을 포함한 여러 다른 다운스트림 분석에 즉시 사용할 수 있습니다(표 2~표 6). PCR 에 사용되는 용출량과 용출액의 양이 PCR 성능에 미치는 영향이 확인되었습니다(표 7 참조).

표 2. Dynal® AllSet+™ SSP 분석 HLA-A "저분리도", HLA-B "저분리도", DR "저분리도", DQ "저분리도"를 사용한 HLA 형별 검사

HLA 좌위 A		HLA 좌위 B		HLA 좌위 DR		HLA 좌위 DQ	
유전자형	번호수	유전자형	번호수	유전자형	번호수	유전자형	번호수
A2/A3	2	B51, B51/B13 또는 B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 또는 DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 또는 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	기타	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
기타	0			DR15	1	기타	0
				DR1/DR7	1		
				기타	0		

개별 공여자로부터 전혈을 수집하고, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 사용하여 200 µl 전혈 검체로부터 유전체 DNA 를 정제하였습니다. Dynal *AllSet+* SSP 분석(Thermo Fisher Scientific 또는 그 자회사)을 사용하며, 주어진 개체 수에 포함된 좌위에서 대립 유전자를 확인했습니다. No.: number of individuals(개체 수).

표 3. LightCycler® Factor V Leiden 돌연변이 검출 키트를 사용한 Factor V Leiden(FV) 유전형 분석

유전자형	수
야생형	17
FV G16191 A 이형 접합	13
FV G16191 A 동형 접합	0

30 명의 개별 공여자로부터 전혈을 수집하고, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 사용하여 200 µl 전혈 검체로부터 유전체 DNA 를 정제하였습니다. LightCycler Factor V Leiden 돌연변이 검출 키트(Roche Group)를 사용하여 FV G1691 A 좌위의 대립유전자 상태가 확인되었습니다.

표 4. Pyrosequencing PSQ 96MA 에서 PSQ-96 SNP-Reagent Kit 로 종말점 PCR 및 Pyrosequencing® 분석을 사용한 Factor V Leiden(FV) 유전자형 분석

유전자형	수
야생형	17
FV G16191 A 이형 접합	13
FV G16191 A 동형 접합	0

30 명의 개별 공여자로부터 전혈을 수집하고, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 사용하여 200 µl 전혈 검체로부터 유전체 DNA 를 정제하였습니다. Pyrosequencing PSQ 96MA(Biotage)에서 PSQ-96 SNP-Reagent Kit 로 종말점 PCR 및 Pyrosequencing 분석을 사용하여 FV G1691 A 좌위의 대립유전자 상태가 확인되었습니다.

표 5. Pyrosequencing PSQ 96MA 에서 PSQ-Q96 SNP Reagent Kit 로 종말점 PCR 및 Pyrosequencing 분석을 사용한 프로트롬빈(Prothrombin, PT) 유전자형 분석

유전자형	수
야생형	30
PT G20210A 이형 접합	0
PT G20210A 동형 접합	0

30 명의 개별 공여자로부터 전혈을 수집하고, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 사용하여 200 µl 전혈 검체로부터 유전체 DNA 를 정제하였습니다. Pyrosequencing PSQ 96MA(Biotage)에서 PSQ-96 SNP Reagent Kit 로 종말점 PCR 및 Pyrosequencing 분석을 사용하여 PT G20210A 좌위의 대립유전자 상태가 확인되었습니다.

표 6. 종말점 PCR 을 사용한 ApoE 다형성 T112C 및 C158T 분석, BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit 를 사용한 앰플리콘의 염기서열 분석 포함, ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer 를 사용한 분리

유전자형	수
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
기타	0

10 명의 개별 공여자로부터 전혈을 수집하고, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 사용하여 200 µl 전혈 검체로부터 유전체 DNA 를 정제하였습니다. 종말점 PCR 을 사용한 ApoE 다형성 T112C 및 C158T 분석, BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit 를 사용한 앰플리콘의 염기서열 분석 포함, ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer(Thermo Fisher Scientific 또는 그 자회사)에서의 분리.

표 7. PCR 에 사용되는 용출량과 용출액 양이 PCR 성능에 미치는 영향

용출량	**50 µl PCR 당 용출액 양***		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100%	100%	100%
100 µl	100%	100%	97%
200 µl	100%	100%	100%

* 값은 PCR 적중률과 48 개 검체의 평균을 나타냅니다.

용출액 안정성

동일한 기술을 사용한 일반 실험실 사용 키트인 QIAamp DNA Blood Mini Kit 를 사용하여 생성된 용출액을 사용한 보관 검사에서 Buffer AE 로 QIAamp Mini Spin Column 으로부터 용출된 DNA 는 2 ~ 8°C 또는 -30 ~ -15°C 에서 보관할 때 8 년 동안 안정적인 것으로 나타났습니다(그림 7). 단, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 를 사용하여 획득한 용출액의 안정성에 대한 장기 연구는 진행 단계입니다.

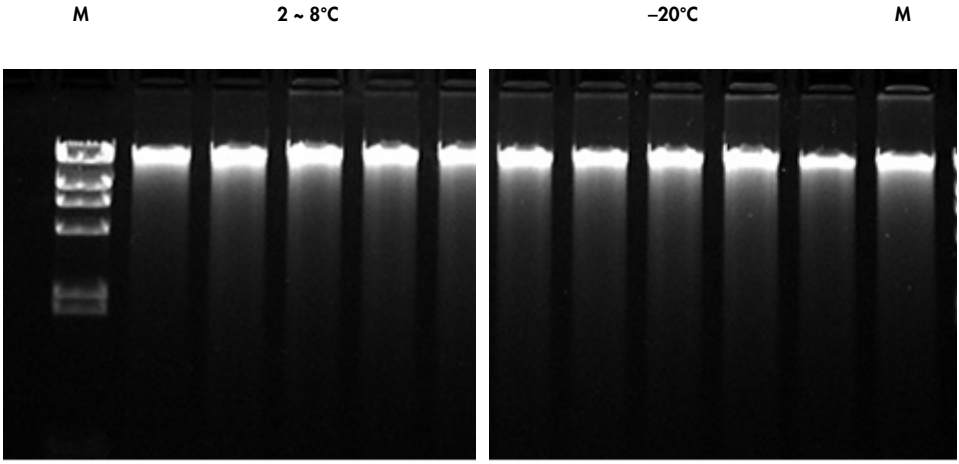


그림 7. QIAamp Mini 스핀 컬럼을 사용하여 분리 및 정제된 DNA 의 장기 안정성. DNA 는 QIAamp DNA Blood Mini Kit 를 사용하여, 200 µl Buffer AE 에서 용출되었고, 2 ~ 8°C 또는 –20°C 에서 8 년 동안 보관되었습니다. DNA 검체는 에티디움 브로마이드 염색 아가로스 겔에서 분석되었습니다. M: marker(표지자).

기호

사용 설명서 또는 포장물 및 라벨에 다음과 같은 기호가 있을 수 있습니다.

기호	기호 정의
	<N>회 반응에 충분한 시약 포함
	사용 기한
	체외 진단용 의료 기기
	도착 시
	수령 시 개봉, QIAamp Mini 스핀 컬럼은 2 ~ 8°C 에서 보관할 것
	카탈로그 번호
	로트 번호
	재료 번호(즉, 구성품 라벨)
	구성품
	내용물
	수
	국제 거래 단위 번호
Rn	R 은 사용 설명서의 개정 버전을 나타내며, n 은 개정 번호입니다.

기호	기호 정의
	온도 제한
	제조업체
	사용 설명서 참조
	부피
	에탄올을 병에 첨가한 후 날짜를 기록
	첨가
	동결 건조됨
	재구성 용액
	에탄올
	염산 구아니딘
	서브틸리신
	다음 단계
	사용 설명서 참조
	중요 참고사항

주문 정보

제품	목차	카탈로그 번호
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	50 회 DNA 준비용: QIAamp Mini 스핀 컬럼, VacConnector, QIAGEN Protease, 시약, 완충액 및 채집 튜브	61104
관련 제품		
QIAcube Connect MDx*	기기와 부품 및 공임 1 년 보장	9003070
부속품		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	1–24 개의 스핀 컬럼 처리를 위한 진공 매니폴드: QIAvac 24 Plus 진공 매니폴드, 루어 플러그, 퀵 커플링	19413
Vacuum Pump†	범용 진공 펌프	84020
VacConnectors†	루어 커넥터에 QIAamp 스핀 컬럼과 함께 사용하는 500 개의 일회용 커넥터	19407
Rotor Adapters	240 회분: 240 개 1 회용 로터 어댑터 및 240 개 용출 튜브(1.5 ml), QIAcube 와 함께 사용	990394
Rotor Adapter Holder	12 개 1 회용 로터 어댑터의 홀더, QIAcube 와 함께 사용	990392

제품	목차	카탈로그 번호
Sample Tubes CB	QIAcube 및 QIAcube Connect MDx 와 함께 사용하는 스커트 베이스가 없는 1000 개 원뿔형 나사 캡 튜브(2 ml)	990382
Shaker Rack Plugs	QIAcube 쉐이커 랙 로드용	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	뚜껑이 없는 시약병(30 ml), 6 개 팩, QIAcube 와 함께 사용	990393
Filter-Tips, 1000 µl	일회용 필터 팁, 랙형, (8 x 128). QIAcube 와 함께 사용	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	일회용 필터 팁, 넓은 내경, 랙형, (8 x 128), 모든 프로토콜에 필요하지 않음. QIAcube 와 함께 사용	990452
Filter-Tips, 200 µl	일회용 필터 팁, 랙형, (8 x 128). QIAcube 및 QIAsymphony SP/AS 기기와 함께 사용	990332

* QIAcube Connect MDx 가 모든 국가에 제공되지는 않습니다. 추가 세부 정보에 대해서는 QIAGEN 기술 서비스에 문의하십시오.

† 진공 프로토콜에서 사용.

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN 키트 안내서 또는 사용 설명서를 참조하십시오. QIAGEN 키트 안내서와 사용 설명서는 www.qiagen.com 에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

문서 개정 이력

개정판	설명
R2, 01/2021	QIAcube/QIAcube Connect MDx 에서의 자동 정제, 경고 및 사전 주의사항, 프로토콜: 마이크로 원심분리기 또는 QIAcube/QIAcube 를 사용하여 혈액 검체로부터 유전체 DNA 분리 및 정제 섹션 업데이트. QIAcube Connect MDx 및 그 부속품에 대한 언급 추가. 키트 내용물 섹션에서 CD 에 대한 언급 삭제. 편집 및 레이아웃 변경.

이 페이지는 빈 페이지입니다.

이 페이지는 빈 페이지입니다.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit 의 제한적 라이선스 계약

본 제품을 사용하는 것은 제품의 구매자 또는 사용자가 다음의 조건에 동의함을 나타냅니다.

1. 이 제품은 오직 제품과 함께 제공된 프로토콜과 이 안내서에 따라 사용해야 하며, 패널에 포함된 구성품만 함께 사용할 수 있습니다. QIAGEN 은 제품과 함께 제공된 프로토콜, 이 안내서 및 www.qiagen.com 에서 제공하는 추가 프로토콜에 기술된 바와 같은 경우를 제외하고, 그의 지적 재산권 하에서 이 패널에 포함된 구성품을 이 패널에 포함되지 않은 구성품과 함께 사용하거나 통합할 수 있는 라이선스를 허여하지 않습니다. QIAGEN 사용자를 위해 QIAGEN 사용자가 이 추가 프로토콜의 일부를 제공하였습니다. QIAGEN 에서 이 프로토콜을 철저히 검사하거나 최적화하지 않았습니다. QIAGEN 은 이를 보장하지 않으며 제 3 자의 권한을 침해하지 않는다는 것도 보증하지 않습니다.

2. 명시적으로 설명한 라이선스 이외에 QIAGEN 은 이 패널 및/또는 이 패널의 사용이 제 3 자의 권리를 침해하지 않음을 보증하지 않습니다.

3. 이 패널 및 구성품은 일회 사용에 대해 라이선스가 허여되며 재사용, 재정비 또는 재판매할 수 없습니다.

4. QIAGEN 은 명시적으로 설명한 경우 이외에 명시 또는 암시한 다른 라이선스는 명확히 부인합니다.

5. 패널의 구매자 및 사용자는 위에서 금지한 행위로 이어지거나 그러한 행위를 조장할 수 있는 조치를 취하거나 다른 사람이 그렇게 하도록 허용하지 않는다는 데 동의합니다. QIAGEN 은 어떤 법정에서든 이 제한적 라이선스 계약의 금지를 주장할 수 있으며, 패널 및/또는 그것의 구성품과 관련된 이 제한적 라이선스 계약 또는 그것의 지적재산권을 주장하기 위한 어떤 소송에서 변호사 비용을 포함하여 그의 모든 조사 및 법정 비용을 회수할 수 있습니다.

라이선스 조항의 업데이트에 대해서는 www.qiagen.com 을 참조하십시오.

상표: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing®(QIAGEN 그룹), BD®, Vacutainer®(Becton, Dickinson and Company), Bio-One®, Vacuette®, Greiner Bio-One®(Greiner Bio-One GmbH), Eppendorf®, Thermomixer®(Eppendorf AG), LightCycler®(Roche Group), Monovette®, Sarstedt®(Sarstedt AG & Co.), ABI PRISM®, *AllSet*™, BigDye®, Dynal®(Thermo Fisher Scientific 또는 그 자회사). 이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.

2021/01 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, 모든 권한 보유.

주문 **www.qiagen.com/shop** | 기술 지원 **support.qiagen.com** | 웹사이트 **www.qiagen.com**