

Januar 2021

Brugsanvisning til QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit (håndbog)



Version 2



Til in vitro-diagnostisk brug



61104



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



1122788DK



Indhold

| | |
|---|----|
| Tilsigtet anvendelse | 5 |
| Beskrivelse og princip | 6 |
| Lysering af blodceller | 6 |
| Binding af genomisk DNA til QIAamp Mini-spin-kolonnemembranen | 6 |
| Automatisk oprensning på QIAcube/QIAcube Connect MDx | 7 |
| Oversigt og forklaring | 10 |
| Medfølgende materialer | 11 |
| Kit-indhold | 11 |
| Nødvendige materialer, som ikke medfølger | 12 |
| Advarsler og forholdsregler | 14 |
| Sikkerhedsinformation | 14 |
| Opbevaring og håndtering af reagenser | 16 |
| Prøveopbevaring og -håndtering | 16 |
| Fjernelse af restkontaminanter | 17 |
| Eluering af rent genomisk DNA | 17 |
| Vigtige bemærkninger | 18 |
| Vigtige punkter, før en protokol startes | 18 |
| Klargøring af reagenser og buffere | 19 |
| Behandling af QIAamp Mini-spin-kolonner | 20 |
| Eluering af genomisk DNA | 21 |
| Det genomiske DNA's udbytte og kvalitet | 21 |
| Opsætning af QIAvac 24 Plus-vakuumsystem | 21 |

| | |
|--|----|
| Procedure | 24 |
| Protokol: Isolering og oprensning af genomisk DNA fra blodprøve vha. et vakuumsystem | 24 |
| Protokol: Isolering og oprensning af genomisk DNA fra blodprøve vha. en mikrocentrifuge eller QIAcube/QIAcube Connect MDx | 28 |
| Kvalitetskontrol | 31 |
| Begrænsninger | 31 |
| Ydelseskarakteristik | 32 |
| Symboler | 37 |
| Bestillingsinformation | 39 |
| Revisionshistorik for dokumentet | 41 |

Tilsigtet anvendelse

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit er et system, der anvender silicamembranteknologi (QIAamp-teknologi) til isolering og oprensning af genomisk DNA fra biologiske prøver.

Produktet er beregnet til brug af professionelle brugere, såsom laboratorieteknikere og læger, der er uddannet i molekylærbiologisk teknik.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit er beregnet til in vitro-diagnostisk brug.

Beskrivelse og princip

Hver QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedure består af 4 trin:

- Lysering af cellerne i blodprøven
- Binding af det genomiske DNA i cellelysatet til membranen af en QIAamp Mini-spin-kolonne
- Vask af membranen
- Eluering af det genomiske DNA fra membranen

Denne håndbog indeholder protokoller for 2 alternative QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurer: Centrifugeringsproceduren, der kræver en centrifuge, og vakuumpceduren, som kræver en centrifuge og et vakuumsystem (se diagrammet på side 9). Centrifugeringsproceduren kan automatiseres på QIAcube og QIAcube Connect MDx.

Lysering af blodceller

Prøver bliver lyseret under denatureringsforhold ved forhøjede temperaturer. Lysering udføres ved tilstedeværelsen af QIAGEN Protease (QP) og lysisbuffer (AL).

Binding af genomisk DNA til QIAamp Mini-spin-kolonnemembranen

For at kunne optimere bindingen af genomisk DNA til QIAamp Mini-spin-kolonnemembranen, tilsættes der først ethanol til lysaterne. Hvert lysat bliver dernæst overført til QIAamp Mini-spin-kolonnen, og genomisk DNA adsorberes på silica-membranen samtidig med, at lysatet trækkes igennem via vakuumtryk eller centrifugalkraft.

Automatisk oprensning på QIAcube/QIAcube Connect MDx

QIAcube og QIAcube Connect MDx udfører automatisk isolering og oprensning af nukleinsyrer. Det kan behandle op til 12 prøver pr. kørsel.

Klargøring af prøver vha. QIAcube og QIAcube Connect MDx følger de samme trin som den manuelle procedure (dvs. lysning, binding, vask og eluering), hvilket gør det muligt at anvende QIAamp DSP DNA Mini Kit til oprensning af DNA af høj kvalitet.

Hvis QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit automatiseres på QIAcube- eller QIAcube Connect MDx-instrumenter, kan de muligvis behandle færre end 50 prøver på grund af dædvolumen, fordampning og yderligere forbrug af reagenser ved automatiseret pipettering. QIAGEN garanterer kun 50 prøvebehandlinger ved manuel anvendelse af QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



Figur 1. QIAcube.



Figur 2. QIAcube Connect MDx.

QIAamp DSP DNA Blood Mini centrifugerings- og vaccumprocedurer

QIAamp-centrifugeringsprocedur

Prøve



Lysering



Binding



Vaskebuffer
(Buffer AW1)



Vaskebuffer
(Buffer AW2)



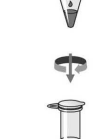
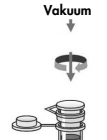
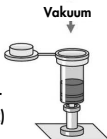
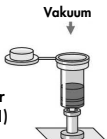
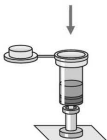
Eluér



Rent genomisk eller viralt DNA

QIAamp-vaccumprocedur

Prøve



Læs protokollerne (side 24 og 28) nøje, før der startes.

Tilsæt 20 µL QP, 200 µL prøve og 200 µL AL til LT, og vortex i 15 sek.
Inkubér i 10 minutter (± 1 minut) ved 56 °C (± 1 °C)
Tilsæt 200 µL ethanol.
Vortex i 15 sek.

Overfør lysat til QIAamp Mini-spin-kolonnen.

Centrifugeringsprocedur: Centrifuger i 1 minut ved 6000 x g.

Vaccumprocedur: Påfør vaccum.

Centrifugeringsprocedur: Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i ny WT, tilsæt 500 µL AW1, og centrifuger i 1 minut ved 6000 x g.

Vaccumprocedur: Tilsæt 750 µL AW1, og påfør vaccum.

Centrifugeringsprocedur: Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i ny WT, tilsæt 500 µL AW2, og centrifuger i 1 minut ved fuld hastighed (ca. 20.000 x g eller 14.000 rpm).

Vaccumprocedur: Tilsæt 750 µL AW2, og påfør vaccum.

Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i WT.

Centrifuger i 3 minutter ved fuld hastighed (ca. 20.000 x g eller 14.000 rpm).

Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i ET.

Tilsæt 50-200 µL AE, og inkubér i 1 min.

Centrifuger i 1 minut ved 6000 x g.

Oversigt og forklaring

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit anvender veletableret teknologi til en hurtig og nem måde at isolere og oprense genomisk DNA fra 200 µL helblodsprøver på.













QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurerne, som er beregnet til samtidig behandling af multiple blodprøver, resulterer i oprenset DNA klar til brug. Procedurene er egnede til anvendelse med frisk eller frossent helblod og blod, som er blevet behandlet med citrat eller EDTA.

De enkle QIAamp DSP centrifugerings- og vacuumprocedurer er egnede til samtidig behandling af multiple prøver. Nogle af QIAamp-centrifugeringsprocedurerne kan fuldautomatiseres med QIAcube eller QIAcube Connect MDx for øget standardisering og nemmere anvendelse (side 7).

Tidligere separation af leukocytter er ikke nødvendig. Procedurene kræver hverken phenol/chloroformekstraktion eller alkoholbundfald og kræver minimal interaktion af brugeren, hvilket gør håndteringen af potentielt infektiøse prøver sikker. Procedurene er designet med henblik på at undgå prøve-til-prøve krydskontaminering. Det oprensede DNA er klar til anvendelse i PCR eller andre applikationer, eller kan alternativt opbevares ved -25 °C til -15 °C til senere brug.

Medfølgende materialer

Kit-indhold

| | | | |
|-------------------------------|--|---|-------------|
| QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit | | | |
| Katalognr. | | | 61104 |
| Antal forberedelser | | | 50* |
| 5 | QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (QIAamp Mini Spin Columns med vaskerør) (WT) (2 mL) |  | 50 |
| ET | Elution Tubes (elueringsrør) (1,5 mL) |  | 50 |
| VC | VacConnectors |  | 50 |
| LT | Lysis Tubes (lysisrør) (1,5 mL) |  | 50 |
| WT | Wash Tubes (vaskerør) (2 mL) |  | 3 x 50 |
| AL | Lysis Buffer [†] (lysisbuffer) |  | 12 mL |
| AW1 | Wash Buffer 1 [†] (vaskebuffer 1) (koncentrat) |  | 19 mL |
| AW2 | Wash Buffer 2 [†] (vaskebuffer 2) (koncentrat) |  | 13 mL |
| AE | Elution Buffer [†] (elueringsbuffer) |  | 25 mL |
| PS | Protease Solvent [‡] (proteaseopløsningsmiddel) |  | 2 mL |
| QP | QIAGEN Protease [§] |  | 1 hætteglas |
| - | Brugsanvisning (Håndbog) |  | 1 |

* Hvis QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit automatiseres på QIAcube- eller QIAcube Connect MDx-instrumenter, kan de muligvis behandle færre end 50 prøver på grund af dødvolumen, fordampning og yderligere forbrug af reagenser ved automatiseret pipettering. QIAGEN garanterer kun 50 prøvebehandlinger ved manuel anvendelse af QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

[†] Indeholder guanidinhydrochlorid. Ikke kompatibel med desinfektionsmidler, der indeholder blegemiddel. Se Sikkerhedsinformation på side 14 for at få yderligere oplysninger.

[‡] Indeholder natriumazid som konserveringsmiddel.

[§] Genopslæmningsmængde 1,2 mL. Se "Klargøring af reagenser og buffere" på side 19.

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

Til centrifugerings- og vakuumpcedureerne

- Ethanol (96–100 %)
- Pipetter* og pipettespidser (for at forhindre krydskontaminering anbefaler vi på det kraftigste at anvende pipettespidser med aerosolskærme)
- Engangshandsker
- Varmeblok* til lysering af prøver ved 56 °C (vi anbefaler Eppendorf® Thermomixer® comfort med termoblok til 1,5 mL mikroprøverør†)
- Mikrocentrifuge*
- Målecylinder (50 mL)
- Vortexer

Kun til vakuumpceduren

- QIAvac 24 Plus-vakuumsystem (kat.-nr. 19413) eller tilsvarende
- VacConnectors (kat.-nr. 19407)
- VacValves (kat.-nr. 19408)
- QIAvac Connecting System (kat.-nr. 19419)
- Vacuum Pump (kat.-nr. 84020)
- Vacuum Regulator (kat.-nr. 19530)

* For at sikre, at prøverne er behandlet korrekt i QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedureerne, anbefaler vi på det kraftigste, at instrumenter (f.eks. pipetter og varmeblokke) kalibreres i henhold til fremstillernes anbefalinger.

† Dette er ikke en komplet liste over leverandører, og den indbefatter ikke mange vigtige forhandlere af biologiske artikler.

Kun til den automatiske procedure

- Rotor Adapters, kat.-nr. 990394
- Rotor Adapter Holder, kat.-nr. 990392
- Sample Tubes CB, kat.-nr. 990382 (prøveoverførselsrør)
- Shaker Rack Plugs, kat.-nr. 9017854
- Reagent Bottles, 30 mL, kat.-nr. 990393
- Filter Tips, 1000 μ L, kat.-nr. 990352
- Filter Tips, 200 μ L, kat.-nr. 990332
- SafeSeal Tube, 1,5 mL, Sarstedt® (kat.-nr. 72.706)

Advarsler og forholdsregler

Bemærk! Alvorlige hændelser med relation til brugen af udstyret skal muligvis rapporteres til producenten og den ansvarlige myndighed i det land, hvor brugeren og/eller patienten befinder sig.

Sikkerhedsinformation

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for yderligere information. Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen www.qiagen.com/safety, hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN-kit og hver kitkomponent.



FORSIGTIG: Der må IKKE tilsættes blegemiddel eller syreholdige opløsninger direkte i affaldet fra klargøringen af prøven.

Lysisbuffer (AL) og vaskebuffer 1 (AW1) indeholder guanidinhydrochlorid, som kan danne højreaktive forbindelser, når de kombineres med blegemiddel. Hvis væske, der indeholder disse buffere, spildes, rengøres med egnet rengøringsmiddel til laboratorier og vand. Hvis den spildte væske indeholder potentielt smittefarlige stoffer, rengøres det påvirkede område først med rengøringsmiddel til laboratorier og vand og dernæst med 1 % (v/v) natriumhypochlorit. Hvis bufferflaskerne er beskadigede eller lækker, bæres der handsker og beskyttelsesbriller, når flaskerne bortskaffes for at undgå personskade eller skade på andre.

QIAGEN har ikke testet det flydende affald, der genereres af QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurer mht. resterende infektiøse materialer. Kontaminering af det flydende affald med resterende infektiøse materialer er usandsynligt, men kan ikke helt udelukkes. Derfor skal flydende affald betragtes som infektiøst og håndteres og bortskaffes i henhold til lokale sikkerhedsbestemmelser.

De følgende risiko- og sikkerhedssætninger gælder for komponenter af QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit:

Lysisbuffer (AL) og vaskebuffer 1 (AW1)



Indeholder: guanidinhydrochlorid. Advarsel! Skadelig ved indtagelse eller ved indånding. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

QIAGEN Protease (QP)



Indeholder: subtilisin. Fare! Farlig ved indtagelse. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenskade. Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. Kan forårsage åndedrætsbesvær.



Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. Anvend åndedrætsværn. VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand



i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis det kan gøres let. Fortsæt med at skylle. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Ring straks til GIFTLINJEN, eller søg læge. Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vedkommende hviler i en stilling, som letter vejtrækningen.

Opbevaring og håndtering af reagenser

QIAamp Mini-spin-kolonner bør opbevares ved temperaturer på 2–8 °C efter ankomst, og de kan bruges indtil udløbsdatoen på kittets kasse.

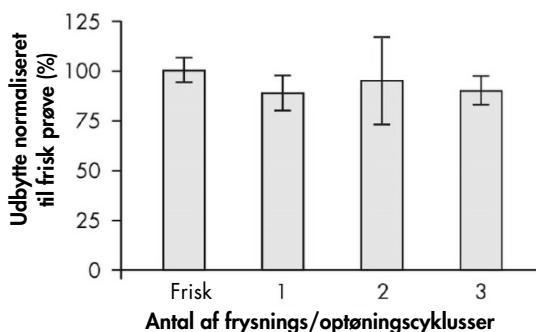
Alle buffere kan opbevares ved stuetemperatur (15–25 °C) indtil udløbsdatoen på kittets kasse.

Lyofiliseret QIAGEN Protease (QP) kan opbevares ved stuetemperatur (15–25 °C) indtil kittets udløbsdato uden at påvirke dens ydelse. Rekonstitueret QIAGEN Protease er stabilt i op til 1 år, når det opbevares ved temperaturer på 2–8 °C, men kun indtil kittets udløbsdato.

Rekonstitueret vaskebuffer 1 (AW1) og rekonstitueret vaskebuffer 2 (AW2) er stabile i 1 år, når opbevaret ved stuetemperatur (15–25 °C), men kun indtil kittets udløbsdato.

Prøveopbevaring og -håndtering

Kryopræcipitater, der dannes under optøning af frosne prøver vil tilstoppe membranen på QIAamp Mini-spin-kolonnen. Hvis kryopræcipitater er synlige, skal man undgå at aspirere dem under aspiration af prøven. Virkningerne af at fryse og optø blodprøver på DNA-oprensningen vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit er blevet bestemt (se figur 3).



Figur 3. Virkning af frysnings og optøning af blodprøver. EDTA-behandlet blod blev frosset og optøet op til 3 gange og dernæst udsat for DNA-oprensning vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. De beregnede DNA-udbytter normaliseres til resultaterne fra friske prøver (100 %). Hver søjle på diagrammet repræsenterer resultaterne fra 32 replikater (middel ± standardafvigelse).

Mængden af DNA oprenset i QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedureerne afhænger af indholdet af hvide blodlegemer i hver blodprøve. Vha. centrifugerings- eller vakuumpceduren oprenses genomisk DNA fra 200 µL blodprøver fra sunde donorer. Adskillige forskellige primære glas og antikoagulanter kan anvendes til indhentning af blodprøver til QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurer (tabel 1).

Tabel 1. Gennemsnitligt, relativt udbytte af DNA fra blodprøver indhentet vha. forskellige primære glas og antikoagulanter

| Primært glas | Producent | Kat.-nr. | Nominelt volumen | Gennemsnitlig resultat* |
|---------------------|------------------|-------------|------------------|-------------------------|
| 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 |

Genomisk DNA blev oprenset fra 200 µL-blodprøver fra raske donorer (4,0 til 9,0 × 10⁶ celler pr. mL).

* For hvert primært glas bestemmes det gennemsnitlige udbytte fra 11 prøver med trippelbestemmelser.

Fjernelse af restkontaminanter

Mens det genomiske DNA forbliver bundet til QIAamp Mini Spin Column-membranen, bliver kontaminanter effektivt vasket bort vha. den første vaskebuffer 1 (AW1) og dernæst vaskebuffer 2 (AW2).

Eluering af rent genomisk DNA

Genomisk DNA elueres fra membranen på QIAamp Mini Spin Column vha. 50–200 µL-elueringsbuffer (AE). Det eluerede DNA er klar til brug i forskellige efterfølgende analyser, herunder forskellige efterfølgende in vitro-diagnostiske analyser.

Vigtige bemærkninger

Vigtige punkter, før en protokol startes

- Når du har modtaget kittet, kontrolleres kittets komponenter for beskadigelse. Hvis blisterpakningerne eller bufferflaskerne er beskadigede, kontaktes QIAGEN Teknisk Service eller den lokale forhandler. I tilfælde af væskespild henvises til "Sikkerhedsinformation" (side 14). Der må ikke anvendes beskadigede kitkomponenter, eftersom deres anvendelse kan føre til ringe ydeevne af kittet.
- Udskift altid pipettespidser mellem væskeoverførsler. For at minimere krydskontaminering anbefaler vi anvendelse af pipettespidser med aerosolskærme.
- Alle centrifugeringstrin udføres ved stuetemperatur (15–25 °C).
- Anvend altid engangshandsker og tjek regelmæssigt, at de ikke er kontamineret med prøvemateriale. Bortskaf handsker, hvis de bliver kontaminede.
- For at minimere krydskontaminering åbnes der kun ét glas ad gangen.
- Anvend ikke kitkomponenter fra andre kits sammen med det kit, som du i øjeblikket anvender, medmindre lotnumrene er identiske.
- Undgå, at kitreagenserne udsættes for bakteriekontaminering.
- For at minimere risikoen for infektion fra potentielt infektiøst materiale, anbefaler vi at arbejde under laminare luftstrømsforhold, indtil prøverne er lyserede.
- Dette kit bør kun anvendes af personale, der er uddannet i in vitro-diagnostisk laboratoriepraksis.

Klargøring af reagenser og buffere

- Klargøring af QIAGEN Protease

Tilsæt 1,2 mL proteaseopløsningsmiddel (PS) i hætteglasset med frysetørret QIAGEN Protease (QP), og bland det grundigt. For at undgå, at det skummer, blandes det ved at vende hætteglasset på hovedet adskillige gange. Sørg for, at QIAGEN Protease (QP) er fuldstændigt opløst.

Vigtigt: Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL).

- Forberedelse af vaskebuffer 1

Vha. en målecylinder tilsættes 25 mL ethanol (96-100 %) til flasken med 19 mL vaskebuffer 1 (AW1)-koncentrat. Opbevar den rekonstituerede vaskebuffer 1 (AW1) ved stuetemperatur (15–25 °C).

Vigtigt: Bland altid den rekonstituerede vaskebuffer 1 (AW1) ved at vende flasken på hovedet adskillige gange, før proceduren startes.

- Forberedelse af vaskebuffer 2

Vha. en målecylinder tilsættes 30 mL ethanol (96-100 %) til flasken med 13 mL vaskebuffer 2 (AW2)-koncentrat. Opbevar den rekonstituerede vaskebuffer 2 (AW2) ved stuetemperatur (15–25 °C).

Vigtigt: Bland altid den rekonstituerede vaskebuffer 2 (AW2) ved at vende flasken på hovedet adskillige gange, før proceduren startes.

- Forberedelse af elueringsbuffer

En flaske elueringsbuffer (AE) er inkluderet i kittet. For at forhindre kontaminering af elueringsbuffer (AE) anbefaler vi på det kraftigste at anvende pipettespidser med aerosolskærme, når der pipetteres elueringsbuffer (AE) fra flasken og straks herefter at sætte hættten på flasken igen.

Vigtigt: Elueringsbuffer (AE) indeholder konserveringsmidlet natriumazid, som viser absorptions ved 260 nm. Når DNA kvantificeres i eluatet ved absorptionsmåling på 260 nm, når DNA'ens renhed bestemmes i eluatet ved absorptionsmålinger ved 260 nm og 280 nm, eller når absorptions scannes i området mellem 220 nm og 350 nm, sørges der for, at den tomme prøve indeholder den samme koncentration af natriumazid som eluatet. Hvis eluatet til absorptionsmålinger for eksempel forberedes ved at fortynde 50 µL eluat med 100 µL vand, så forberedes den tomme prøve ved at fortynde 50 µL elueringsbuffer (AE) med 100 µL vand. Anvend frisk, destilleret vand til fortyndingerne.

Behandling af QIAamp Mini-spin-kolonner

På grund af nukleinsyre-amplifikationsmetodernes høje sensitivitet skal følgende forholdsregler overholdes, når der håndteres QIAamp Mini-spin-kolonner for at undgå krydskontaminering mellem klargøringer af prøver:

- Tilsæt forsigtigt prøven eller opløsningen i QIAamp Mini-spin-kolonnen. Pipetter prøven i QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at gøre kolonnens kant våd.
- Udskift altid pipettespidser mellem væskeoverførsler. Vi anbefaler, at der anvendes pipettespidser med aerosolskærme.
- Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonnemembranen med pipettespidsen.
- Efter alle puls-vortex-trinene centrifugeres mikrocentrifugerørerne kortvarigt for at fjerne dråber fra lågenes inderside.
- Åbn kun én QIAamp Mini-spin-kolonne ad gangen, og vær omhyggelig med at undgå aerosoldannelse.
- Brug handsker under hele proceduren. Skift handsker med det samme, hvis de kommer i berøring med prøven.

Eluering af genomisk DNA

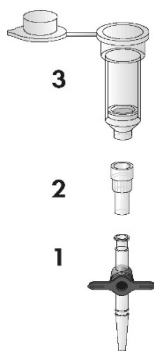
Voluminet af DNA eluteret fra en QIAamp Mini-spin-kolonne kan være op til 20 µL mindre end voluminet af elueringsbufferen (AE), der tilsættes til kolonnen. Mængden af genfundet eluat afhænger af prøvens beskaffenhed. Elueringsbuffer (AE) bør ækvilibreres til stuetemperatur (15–25 °C), før det tilsættes kolonnen. Elueret DNA indsamles i elueringsglas (ET). Hvis DNA opbevares i op til 4 uger, anbefaler vi opbevaring ved temperaturer på 2–8 °C. For langvarig opbevaring anbefaler vi opbevaring ved temperaturer på -30 -15 °C.

Det genomiske DNA's udbytte og kvalitet

Udbyttet og kvaliteten af det isolerede genomiske DNA er egnet til mange typer efterfølgende detektionsprocedurer i molekulære diagnostikker. Diagnostiske analyser bør udføres i henhold til producentens anvisninger.

Opsætning af QIAvac 24 Plus-vakuumsystem

Sørg for, at du opsætter QIAamp Mini-spin-kolonnen, VacConnector (VC) og VacValve korrekt (se figur 4).



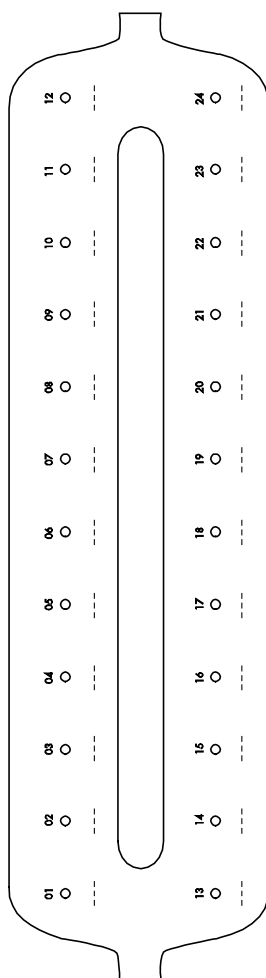
Figur 4. Samling af komponenterne til QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit til vakuumbehandling af prøver. (1) VacValve (2) VacConnector (VC) (3) QIAamp Mini-spin-kolonne

Hvis vakuumproceduren anvendes sammen med QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet, anbefaler vi at etikettere lysisglas (LT), elueringsglas (ET) og QIAamp Mini-spin-kolonnerne i henhold til oversigten på figur 5 (se næste side) for at undgå forveksling af prøver. Denne figur kan fotokopieres og mærkes med navnene på prøverne. Vi anbefaler at anvende en lignende oversigt, hvis andre vakuumsystemer anvendes, eller hvis der anvendes centrifugering.

Dato: _____

Bruger: _____

Kørsels-ID: _____



Figur 5. Etikettersoversigt over lysisglas (LT), elueringsglas (ET) og QIAamp Mini-spin-kolonner til anvendelse på QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet.

Procedure

Protokol: Isolering og oprensning af genomisk DNA fra blodprøver vha. et vakuumsystem

Til isolering og oprensning af genomisk DNA fra 200 µL helblodsprøver behandlet med EDTA eller citrat vha. et vakuumsystem såsom QIAvac 24 Plus-vakuumsystem.

Vigtige anvisninger før start

Proceduren nedenfor giver anvisninger på behandlingen af en enkelt blodprøve. Op til 24 prøver kan imidlertid behandles samtidigt på QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet.

Ting, der skal gøres før start

- Ækvilibrér blodprøver til stuetemperatur, og sørg for, at de er blandet godt.
- Hvis der har dannet sig bundfald i lysisbuffer (AL), opløses det ved inkubering ved 56 °C.
- Sørg for, at vaskebuffer 1 (AW1), vaskebuffer 2 (AW2) og QIAGEN Protease (QP) er blevet klargjort i henhold til anvisningerne i "Klargøring af reagenser og buffere" på side 19.
- Ækvilibrér elueringsbuffer (AE) til stuetemperatur til anvendelse i trin 14.
- Indstil en varmeblok til 56 °C til anvendelse i trin 4.
- For at undgå krydskontaminering indsættes en VacConnector (VC) på hver lueradapter på vakuumsystemet.
- Kvalitetskontrolprocedurer hos QIAGEN anvender test af funktionel kit-frigivelse for hvert individuelle kit-lot. Derfor må der ikke blandes reagenser fra forskellige kit-lots, og der må ikke kombineres individuelle reagenser fra forskellige reagens-lots.
- Sørg for, at affaldsflasken på vakuumsystemet er tom, og at alle koblinger er forbundet korrekt.
- Se den vedlagte håndbog for at få yderligere oplysninger om vakuumsystemets drift, særligt vedligeholdelse.

Procedure

1. Pipetter 20 µL QIAGEN Protease (QP) i et lysisrør (LT).

Bemærk: Kontrollér udløbsdatoen på det rekonstituerede protease før anvendelse.

2. Tilsæt 200 µL blodprøve til lysisglas (LT).
3. Tilsæt 200 µL lysisbuffer (AL) til lysisglasset (LT), luk låget, og bland via impuls-vortexmixer i 15 sekunder.

For at sikre effektiv lysering er det væsentligt, at prøven og lysisbuffer (AL) blandes grundigt for at give en homogen opløsning.

Bemærk: Eftersom lysisbuffer (AL) har en høj viskositet, sørges der for, at det korrekte volumen lysisbuffer (AL) tilsættes ved nøje pipettering eller ved hjælp af en egnet pipette.

Bemærk: Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL).

4. Inkubér ved 56 °C (± 1 °C) i 10 min. (± 1 min.).
5. Centrifuger lysisglas (LT) i ≥ 5 sekunder ved fuld hastighed for at fjerne dråber fra den indvendige side af låget.
6. Tilsæt 200 µL ethanol (96–100 %) til lysisglasset (LT), luk låget, og bland grundigt med impuls-vortexmixer i ≥ 15 sekunder.
7. Centrifuger lysisglas (LT) i ≥ 5 sekunder ved fuld hastighed for at fjerne dråber fra den indvendige side af låget.
8. Indsæt QIAamp Mini-spin-kolonnen i VacConnector (VC) på vakuumsystemet. Sørg for, at den primære vakuumventil (mellem vakuumsystemet og vakuummanifold) og ventilen med skruelåg (på vakuummanifold) er lukkede. Tænd for vakuumpumpen.

Bortskaf vaskeglasset (WT) (2 mL), hvor QIAamp Mini-spin-kolonnen er placeret i blisteret.

Der påføres kun vakuum til det forbundne system (hvis det anvendes) og ikke til vakuummanifold.

9. Tilsæt forsigtigt hele lysatet fra trin 7 til QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen.

Bemærk: Hvis adskillige prøver behandles, åbnes kun ét lysisglas (LT) ad gangen.

10. Åbn den primære vakuumventil. Efter lysatet er trukket gennem QIAamp Mini-spin-kolonnen, lukkes den primære vakuumventil, og ventilen med skruelåg åbnes på vakuummanifold for at ventilere manifold. Luk for ventilen med skruelåg efter vakuum frigives fra manifold.

Efter den primære vakuumventil lukkes, påføres der kun vakuum til det forbundne system (hvis det anvendes) og ikke til vakuummanifold.

Bemærk: Brug ventilen med skruelåg på vakuummanifold til en hurtig frigivelse af vakuum.

Bemærk: Hvis der behandles flere QIAamp Mini-spin-kolonner samtidig, anbefaler vi at lukke VacValve på hver kolonne, når lysatet er passeret igennem for at kunne reducere varigheden af dette vakuumtrin.

Bemærk: Hvis lysatet ikke er passeret helt igennem membranen efter 10 min., anbringes QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent vaskeglas (WT), låget lukkes, og den centrifugeres ved ca. 6000 x g (8000 omdr./min.) i 3 min., eller indtil lysatet er passeret helt igennem. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et andet ret vaskeglas (WT), og fortsæt med trin 10 i protokollen på side 30.

Bemærk: Hvis lysatet stadig ikke er passeret gennem membranen under centrifugation, bortskaffes prøven, og isolation og oprensning gentages med nyt prøvemateriale ved at begynde med trin 1 på side 29.

11. Tilsæt 750 µL vaskebuffer 1 (AW1) til QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen. Lad låget på kolonnen være åben, og åbn for den primære vakuumventil. Efter vaskebuffer 1 (AW1) er trukket gennem QIAamp Mini-spin-kolonnen, lukkes den primære vakuumventil, og ventilen med skruelåg åbnes for at ventilere manifold. Luk for ventilen med skruelåg efter vakuum frigives fra manifold.

12. Tilsæt 750 µL vaskebuffer 2 (AW2) til QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen. Lad låget på kolonnen være åben, og åbn for den primære vakuumventil. Efter vaskebuffer 2 (AW2) er trukket gennem QIAamp Mini-spin-kolonnen, lukkes den primære vakuumventil, og ventilen med skruelåg åbnes for at ventilere manifold. Luk for ventilen med skruelåg efter vakuum frigives fra manifold.

13. Luk låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen, fjern den fra vakuumsystemet, og bortskaf VacConnector (VC). Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent vaskeglas (WT), og centrifugér ved fuld hastighed (ca. 20.000 x g eller 14.000 omdr./min.) i 3 min. for at tørre membranen helt.

Bemærk: Undlades tørrecentrifugeringen kan det føre til hæmning af den efterfølgende analyse.

14. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent elueringsglas (ET), og bortskaf vaskeglasset (WT) med filtratet. Åbn låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen forsigtigt, og tilsæt 50 til 200 µL elueringsbuffer (AE) til midten af membranen. Luk låget, og inkubér ved stuetemperatur i 1 min. Centrifugér ved 6000 x g (8000 omdr./min.) i 1 min. for at eluere DNA'en.

Bemærk: Følg vedligeholdelsesproceduren for vakuumsystemet efter udførelse af denne protokol (se håndbogen, der var vedlagt vakuumsystemet for yderligere oplysninger).

Protokol: Isolering og oprensning af genomisk DNA fra blodprøver vha. en mikrocentrifuge eller QIAcube/QIAcube Connect MDx

Til isolering og oprensning af genomisk DNA fra 200 µL-helblodprøver behandlet med EDTA eller citrat vha. en mikrocentrifuge eller automatisk på QIAcube eller QIAcube Connect MDx.

Vigtige anvisninger før start

- Proceduren nedenfor giver anvisninger på behandlingen af en enkelt blodprøve. Adskillige prøver kan imidlertid blive behandlet samtidigt, men antallet afhænger af den anvendte mikrocentrifuges kapacitet.
- Automatisk behandling af 2–10 eller 12 prøver kan udføres på QIAcube- eller QIAcube Connect MDx-instrumenter.
- I forbindelse med automatisk behandling skal du følge vejledningen fra protokolarkene (QIAcube) eller på softwareskærmen (QIAcube Connect MDx) samt *brugervejledningen til QIAcube eller QIAcube Connect MDx*.

Ting, der skal gøres før start

- Ækvilibrér blodprøver til stuetemperatur, og sørg for, at de er blandet godt.
- Hvis der har dannet sig bundfald i lysisbuffer (AL), opløses det ved inkubering ved 56 °C.
- Sørg for, at vaskebuffer 1 (AW1), vaskebuffer 2 (AW2) og QIAGEN Protease (QP) er blevet klargjort i henhold til anvisningerne i "Klargøring af reagenser og buffere" på side 19.
- Ækvilibrér elueringsbuffer (AE) til stuetemperatur til anvendelse i trin 15.
- Indstil en varmeblok til 56 °C til anvendelse i trin 4.
- Kvalitetskontrolprocedurer hos QIAGEN anvender test af funktionel kit-frigivelse for hvert individuelle kit-lot. Derfor må der ikke blandes reagenser fra forskellige kit-lots, og der må ikke kombineres individuelle reagenser fra forskellige reagens-lots.

Procedure

- Følg trinnene 1–15 i forbindelse med manuel procedure med en mikrocentrifuge.
 - Denne procedure kan automatiseres i 3 forskjellige versjoner:
 - Elueringsmengde: 100 µL fuld automatisering med 100 µL elueringsmengde (startende fra trin 1)
 - Elueringsmengde: 200 µL fuld automatisering med 200 µL elueringsmengde (startende fra trin 1)
 - Manuel lysis: Delvis automatisk med manuel lysis uden for instrumentet (startende med trin 5)
1. Pipetter 20 µL QIAGEN Protease (QP) i et lysisrør (LT).

Bemærk: Kontrollér udløbsdatoen på det rekonstituerede protease før anvendelse.
 2. Tilsæt 200 µL blodprøve til lysisglas (LT).
 3. Tilsæt 200 µL lysisbuffer (AL) til lysisglasset (LT), luk låget, og bland via impuls-vortexmixer i 15 sekunder.

For at sikre effektiv lysering, er det væsentligt, at prøven og lysisbuffer (AL) blandes grundigt for at give en homogen opløsning.

Bemærk: Eftersom lysisbuffer (AL) har en høj viskositet, sørges der for, at det korrekte volumen lysisbuffer (AL) tilsættes ved nøje pipettering eller ved hjælp af en egnet pipette.

Bemærk: Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL).
 4. Inkubér ved 56 °C (±1 °C) i 10 min. (±1 min.).
 5. Centrifuger lysisglas (LT) i ≥5 sekunder ved fuld hastighed for at fjerne dråber fra den indvendige side af låget.

Bemærk: Hvis der blev foretaget manuel lysis (trin 1–5) uden for instrumentet, kan følgende trin (trin 6–15) automatiseres på QIAcube eller QIAcube Connect MDx ved hjælp af protokollen for manuel lysis.
 6. Tilsæt 200 µL ethanol (96–100 %) til lysisglasset (LT), luk låget, og bland grundigt med impuls-vortexmixer i ≥15 sekunder.

7. Centrifuger lysisglas (LT) i ≥ 5 sekunder ved fuld hastighed for at fjerne dråber fra den indvendige side af låget.
8. Tilsæt forsigtigt hele lysatet fra trin 7 til QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen.

Bemærk: Hvis adskillige prøver behandles, åbnes kun ét lysisglas (LT) ad gangen.

9. Luk låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen, og centrifuger ved ca. $6000 \times g$ i 1 min. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent vaskeglas (WT), og bortskaf glasset med filtratet.

Bemærk: Hvis lysatet ikke er passeret helt igennem membranen efter centrifugeringen ved $6000 \times g$ (8000 omdr./min.), centrifugeres igen ved fuld hastighed (op til $20.800 \times g$) i 1 minut.

Bemærk: Hvis lysatet stadig ikke er passeret gennem membranen under centrifugation, bortskaffes prøven, og isolation og oprensning gentages med nyt prøvemateriale ved at begynde med trin 1 på side 29.

10. Åbn forsigtig QIAamp Mini-spin-kolonnen, og tilsæt $500 \mu\text{L}$ vaskebuffer 1 (AW1) uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen.

11. Luk låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen, og centrifuger ved ca. $6000 \times g$ i 1 min. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent vaskeglas (WT), og bortskaf glasset med filtratet.

12. Åbn forsigtig QIAamp Mini-spin-kolonnen, og tilsæt $500 \mu\text{L}$ vaskebuffer 2 (AW2) uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen.

13. Luk låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen, og centrifuger ved fuld hastighed (ca. $20.000 \times g$ (14.000 omdr./min.)) i 1 min. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent vaskeglas (WT), og bortskaf glasset med filtratet.

14. Centrifuger ved fuld hastighed (ca. $20.000 \times g$ eller 14.000 omdr./min.) i 3 min. for at tørre membranen helt.

Bemærk: Undlades tørrecentrifugeringen kan det føre til hæmning af den efterfølgende analyse.

15. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent elueringsglas (ET), og bortskaf vaskeglasset (WT) med filtratet. Åbn låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen forsigtigt, og tilsæt 50 til $200 \mu\text{L}$ elueringsbuffer (AE) til midten af membranen. Luk låget, og inkubér ved stuetemperatur i 1 min. Centrifuger ved ca. $6000 \times g$ (8000 omdr./min.) i 1 min. for at eluere DNA'en.

Vigtig bemærkning: Ved alle automatiske procedurer skal eluater fjernes fra instrumentet lige efter afslutningen af kørslen, og de skal opbevares korrekt.

Kvalitetskontrol

I henhold til QIAGEN's ISO-certificerede totale kvalitetsbehandlingsystem testes hvert lot QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit mod forudbestemte specifikationer for at sikre konstant produktkvalitet.

Begrænsninger

Systemets ydeevne er blevet fastlagt ved at anvende helblod til isolation af genomisk DNA.

Det er brugerens ansvar at validere systemets ydelse for procedurer, der anvendes i deres laboratorium, og som ikke er dækket af QIAGEN-ydelsesundersøgelser.

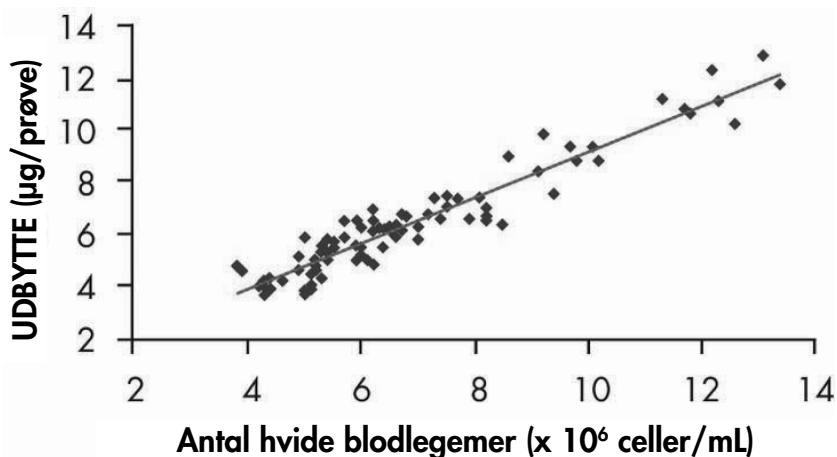
For at minimere risikoen for en negativ indvirkning på diagnostiske resultater skal der anvendes hensigtsmæssige kontroller for efterfølgende anvendelser. For yderligere validering anbefales retningslinjerne i International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) i ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology.

De fremkomne diagnostiske resultater skal fortolkes i forbindelse med andre kliniske fund eller laboratoriefund.

Ydelseskarakteristik

Udbytte af oprenset DNA

Det lineære interval af DNA-udbyttet vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini-vakuumpceduren er blevet bestemt for blod fra raske donorer med et antal hvide blodlegemer på $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ celler/mL (se figur 6).



Figur 6. Lineært interval af DNA-udbytte vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini-vakuumpceduren med 200 µL elueringsmængde. Antal hvide blodlegemer fra raske donorer blev bestemt og lå i intervallet $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ celler/mL. DNA blev oprenset fra blodprøverne vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini-vakuumpceduren med 200 µL elueringsmængde. 87 prøver blev behandlet med trippelbestemmelser.

Ydelse i efterfølgende analyser

Det eluerede genomiske DNA er klar til brug i forskellige efterfølgende analyser, herunder forskellige efterfølgende in vitro-diagnostiske analyser (tabel 2 til tabel 6). Virkningerne af elueringsmængde og mængden af eluat, der anvendes i PCR mht. PCR-ydeevne, er blevet bestemt (se tabel 7).

Tabel 2. HLA-typebestemmelse vha. Dynal® AllSet™ SSP-analyser HLA-A "Low Resolution", HLA-B "Low Resolution", DR "Low Resolution" og DQ "Low Resolution"

| HLA locus A | | HLA locus B | | HLA locus DR | | HLA locus DQ | |
|-------------|-----|-----------------------------|-----|--------------------|-----|--------------|-----|
| Genotype | Nr. | Genotype | Nr. | Genotype | Nr. | Genotype | Nr. |
| A2/A3 | 2 | B51, B51/ B13 eller B51/B27 | 1 | DR1/DR3 | 1 | DQ2 | 1 |
| A3/A1 | 1 | B13/B35 | 1 | DR3 eller DR3/DR13 | 1 | DQ2/DQ3 | 2 |
| A3/A25 | 1 | B8/B27 | 1 | DR3/DR7 | 1 | DQ6 | 1 |
| A2/A24 | 2 | B7/B13 eller 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 | Andet | 0 | DR4 | 1 | DQ3/DQ6 | 2 |
| Andet | 0 | | | DR15 | 1 | Andet | 0 |
| | | | | DR1/DR7 | 1 | | |
| | | | | Andet | 0 | | |

Helblod blev indsamlet fra individuelle donorer, og genomisk DNA blev oprenset fra 200 µl helblod vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Ved at bruge Dynal *AllSet* SSP-analyser (Thermo Fisher Scientific eller dets datterselskaber) blev alleler identificeret på de indicerede loci i det givne antal individer. Antal: Antal individer.

Tabel 3. Factor V Leiden (FV)-genotypebestemmelse vha. LightCycler® Factor V Leiden-mutationsbestemmelseskit

| Genotype | Antal |
|-------------------------|-------|
| Vildtype | 17 |
| FV G16191 A heterozygot | 13 |
| FV G16191 A homozygot | 0 |

Helblod blev indsamlet fra 30 individuelle donorer, og genomisk DNA blev oprenset fra 200 µl helblod vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Den allelle status ved FV G1691 A locus be bestemt vha. LightCycler Factor V Leiden-mutationsbestemmelseskit (Roche Group).

Tabel 4. Factor V Leiden (FV)-genotypebestemmelse vha. endepunkts-PCR og Pyrosequencing®-analyse med PSQ-96 SNP-Reagent Kit på Pyrosequencing PSQ 96MA

| Genotype | Antal |
|-------------------------|-------|
| Vildtype | 17 |
| FV G16191 A heterozygot | 13 |
| FV G16191 A homozygot | 0 |

Helblod blev indsamlet fra 30 individuelle donorer, og genomisk DNA blev oprenset fra 200 µl helblod vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Den allelle status ved FV G16191 A locus blev bestemt vha. endepunkts-PCR og Pyrosequencing-analyse med PSQ-96 SNP-Reagent Kit på Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabel 5. Prothrombin (PT) genotypebestemmelse vha. endepunkts-PCR og Pyrosequencing-analyse med PSQ-Q96 SNP Reagent Kit på Pyrosequencing PSQ 96MA

| Genotype | Antal |
|------------------------|-------|
| Vildtype | 30 |
| PT G20210A heterozygot | 0 |
| PT G20210A homozygot | 0 |

Helblod blev indsamlet fra 30 individuelle donorer, og genomisk DNA blev oprenset fra 200 µl helblod vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Den allelle status ved PT G20210 A locus blev bestemt vha. endepunkts-PCR og Pyrosequencing-analyse med PSQ-96 SNP Reagent Kit på Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabel 6. Analyse af ApoE-polymorfismer T112C og C158T vha. endepunkts-PCR, med sekventering af amplikon vha. BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit på ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer

| Genotype | Antal |
|-----------|-------|
| ApoE*3/*3 | 5 |
| ApoE*3/*4 | 5 |
| Andet | 0 |

Helblod blev indsamlet fra 10 individuelle donorer, og genomisk DNA blev oprenset fra 200 µL helblod vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Analyse af ApoE-polymorfismer T112C og C158T blev udført vha. endepunkts-PCR, med sekventering af amplikon vha. BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit og separation på ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific eller dets datterselskaber).

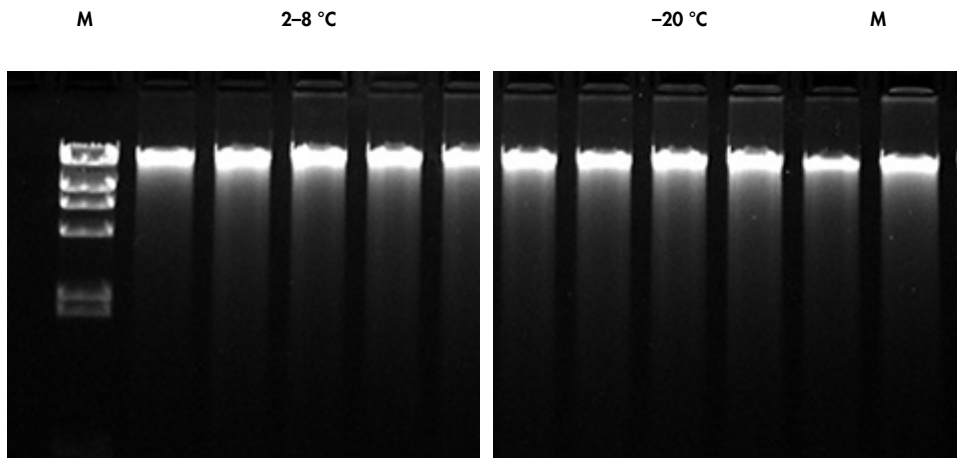
Tabel 7. Virkninger af elueringsmængde og mængde af eluat anvendt i PCR mht. PCR-ydeevne

| Elueringsmængde | Eluatvolumen pr. 50 µL PCR* | | |
|-----------------|-----------------------------|-------|-------|
| | 2 µL | 5 µL | 10 µL |
| 50 µL | 100 % | 100 % | 100 % |
| 100 µL | 100 % | 100 % | 97 % |
| 200 µL | 100 % | 100 % | 100 % |

* Værdier viser PCR-genfindelsesforholdet og repræsenterer gennemsnittet af 48 prøver.

Eluatstabilitet














I opbevaringstests med eluater genereret vha. QIAamp DNA Blood Mini Kit, et almindeligt kit til laboratorieanvendelse, der anvender identisk teknologi, blev det påvist, at DNA elueret fra QIAamp Mini Spin Columns i Buffer AE var stabilt i 8 år, når det blev opbevaret enten ved 2 til 8 °C eller -30 til -15 °C (figur 7). Længerevarende studier vedrørende eluaters stabilitet, som opnås vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit, er imidlertid i gang.









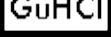
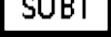





Figur 7. Længerevarende stabilitet af DNA isoleret og oprenset vha. QIAamp Mini-spin-kolonner. DNA blev oprenset vha. QIAamp DNA Blood Mini Kit, elueret i 200 µL Buffer AE og opbevaret ved enten 2-8 °C eller -20 °C i 8 år. DNA-prøver blev analyseret på en ethidium-bromid-farvet agarosegel. M: markør.

Symboler

Følgende symboler kan evt. findes i brugsanvisningen på emballagen og etiketten:

| Symbol | Symboldefinition |
|---|--|
|  | Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N>-reaktioner |
|  | Holdbarhedsdato |
|  | Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik |
|  | Ved levering |
|  | Åbnes ved levering, opbevar QIAamp Mini-spin-kolonner ved 2-8 °C |
|  | Katalognummer |
|  | Lotnummer |
|  | Materialenummer (dvs. etiketten på komponenten) |
|  | Komponenter |
|  | Indeholder |
|  | Antal |
|  | Globalt handelsvarenummer |
| Rn | R står for revision af brugsanvisningen, og n står for revisionsnummeret |
|  | Temperaturbegrænsning |

| Symbol | Symboldefinition |
|---|---|
|  | Producent |
|  | Læs brugsanvisningen |
|  | Volumen |
|  | Skriv den aktuelle dato ned efter tilsætning af ethanol til flasken |
|  | Tilsætter |
|  | Lyofiliseret |
|  | Rekonstituér i |
|  | Ethanol |
|  | Guanidinhydrochlorid |
|  | Subtilisin |
|  | Fører til |
|  | Læs brugsanvisningen |
|  | Vigtig bemærkning |

Bestillingsinformation

| Produkt | Indhold | Kat.-nr. |
|------------------------------------|--|----------|
| QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50) | Til 50 DNA-klargøringer: QIAamp Mini-spin-kolonner, VacConnectors, QIAGEN Protease, reagenser, buffere og prøvetagningsrør | 61104 |
| Relaterede produkter | | |
| QIAcube Connect MDx* | Instrument og 1 års garanti på dele og arbejds løn | 9003070 |
| Tilbehør | | |
| QIAvac 24 Plus vacuum manifold† | Vakuumanifold til behandling af 1–24 spin-kolonner: QIAvac 24 Plus-vakuumanifold, Luer Plugs, Quick Couplings | 19413 |
| Vacuum Pump† | Universal vakuumpumpe | 84020 |
| VacConnectors† | 500 engangskonnetorer til brug sammen med QIAamp-spin-kolonner på luerforbindelser | 19407 |
| Rotor Adapters | Til 240 klargøringer: 240 engangsrotoradaptere og 240 elueringsrør (1,5 mL); til brug med QIAcube | 990394 |
| Rotor Adapter Holder | Holder til 12 engangsrotoradaptere; til brug med QIAcube | 990392 |
| Sample Tubes CB | 1000 koniske rør med skruehætte uden krave (2 mL) til brug med QIAcube og QIAcube Connect MDx | 990382 |

| Produkt | Indhold | Kat.-nr. |
|---------------------------------|--|----------|
| Shaker Rack Plugs | Til påsætning af QIAcube-rysterholderen | 9017854 |
| Reagent Bottles, 30 ml | Reagensflasker (30 mL) med låg; pakke med 6; til brug med QIAcube | 990393 |
| Filter-Tips, 1000 µl | Engangsfilterspidser i rack (8 x 128). Til brug med QIAcube | 990352 |
| Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore | Engangsfilterspidser, wide-bore, i rack; (8 x 128); ikke påkrævet til alle protokoller. Til brug med QIAcube | 990452 |
| Filter-Tips, 200 µl | Engangsfilterspidser i rack (8 x 128). Til brug med QIAcube- og QIASymphony SP/AS-instrumenterne | 990332 |

* QIAcube Connect MDx er ikke tilgængeligt i alle lande. Kontakt QIAGEN Teknisk Service for at få yderligere oplysninger.

† Til brug med vakuumprotokoller.

Opdaterede licensoplysninger og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser findes i håndbogen eller brugervejledningen til det pågældende QIAGEN-kit. Håndbøger og brugervejledningen til QIAGEN-kits kan fås via www.qiagen.com eller rekvireres hos QIAGEN Teknisk Service eller den lokale distributør.

Revisionshistorik for dokumentet

| Revision | Beskrivelse |
|-----------------|---|
| R2, 01/2021 | <p>Opdateringer af Automatisk oprensning på QIAcube/QIAcube Connect MDx, Advarsler og forholdsregler og afsnittene Protokol: Isolering og oprensning af genomisk DNA fra blodprøver vha. en mikrocentrifuge eller QIAcube/QIAcube.</p> <p>Referencer til QIAcube Connect MDx og dets tilbehør er blevet tilføjet.</p> <p>Reference til CD i afsnittet Kit-indhold er blevet fjernet.</p> <p>Redaktionelle og layoutmæssige ændringer.</p> |

Denne side er tom med vilje.

Denne side er tom med vilje.

Begrænset licensaftale for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne håndbog og kun med de komponenter, der er i panelet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette panel med komponenter, der ikke er inkluderet i dette panel, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne håndbog og andre protokoller, der er tilgængelige på www.qiagen.com. Nogle af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette panel, og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette panel og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, genoprettes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køber og brugeren af panelet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og sagsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med panelet og/eller komponenterne deri.

Opdaterede licensbetingelser kan findes på www.qiagen.com.

Varemærker: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); 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®, *AllSer*™, BigDye®, Dynal® (Thermo Fisher Scientific eller dets datterselskaber). Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når de ikke er specifikt markeret som sådan.

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com