

Januari 2021

Gebruiksaanwijzing (handleiding) QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit



Versie 2



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik



61104



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



1122788NL



Inhoud

Beoogd gebruik.....	5
Beschrijving en principe	6
Bloedcellen lyseren	6
Genomisch DNA aan het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom binden	6
Geautomatiseerde zuivering op QIAcube/QIAcube Connect MDx.....	7
Samenvatting en uitleg.....	10
Meegeleverde materialen	11
Inhoud van de kit	11
Benodigde, maar niet-megeleverde materialen	12
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	14
Veiligheidsinformatie	14
Opslag en hantering van reagentia	16
Bewaren en hanteren van specimen	16
Achtergebleven verontreinigingen verwijderen	18
Zuiver genomisch DNA elueren.....	18
Belangrijke opmerkingen.....	18
Belangrijke punten voordat u start met een protocol.....	18
Reagentia en buffers bereiden	19
Werken met QIAamp Mini-spinkolommen	20
Genomisch DNA elueren.....	21
Opbrengst en kwaliteit van genomisch DNA	21
Het QIAvac 24 Plus-vacuümsysteem configureren	22

Procedure	24
Protocol: isolatie en zuivering van genomisch DNA uit bloedmonsters met behulp van een vacuümsysteem	24
Protocol: Isolatie en zuivering van genomisch DNA uit bloedmonsters met behulp van een microcentrifuge of QIAcube/QIAcube Connect MDx.....	28
Kwaliteitscontrole.....	32
Beperkingen.....	32
Prestatiekenmerken	33
Symbolen	38
Bestelgegevens.....	40
Revisiegeschiedenis van document.....	42

Beoogd gebruik

De QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit is een systeem voor isolatie en zuivering van genomisch DNA uit biologische monsters met behulp van silicamembraantechnologie (QIAamp-technologie).

Het product is bedoeld voor toepassing door beroepsmatige gebruikers, bijvoorbeeld analisten en artsen die zijn opgeleid in moleculair-biologische technieken.

De QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit is bedoeld voor in-vitrodiagnostiek.

Beschrijving en principe

Elke QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedure bestaat uit 4 stappen:

- de cellen in het bloedmonster lyseren;
- het genomisch DNA in het cellysaat aan het membraan van een QIAamp Mini-spinkolom binden;
- het membraan wassen;
- het genomisch DNA uit het membraan elueren.

Deze handleiding bevat protocollen voor 2 alternatieve QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedures: de centrifugeerprocedure, waar een centrifuge voor nodig is, en de vacuümprocedure, waar een centrifuge en een vacuümsysteem voor nodig is (zie het stroomschema op pagina 9). De centrifugeerprocedure kan worden geautomatiseerd op de QIAcube en de QIAcube Connect MDx.

Bloedcellen lyseren

De monsters worden bij verhoogde temperaturen gelyseerd onder denaturerende omstandigheden. Lysis wordt uitgevoerd in de aanwezigheid van QIAGEN Protease (QP) en lysisbuffer (AL).

Genomisch DNA aan het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom binden

Voor een optimale binding van genomisch DNA aan het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom wordt eerst ethanol toegevoegd aan de lysaten. Daarna wordt elk lysaat aangebracht op een QIAamp Mini-spinkolom en wordt het door vacuümdruk of centrifugale kracht door het silicamembraan geperst, waardoor genomisch DNA wordt geadsorbeerd.

Geautomatiseerde zuivering op QIAcube/QIAcube Connect MDx

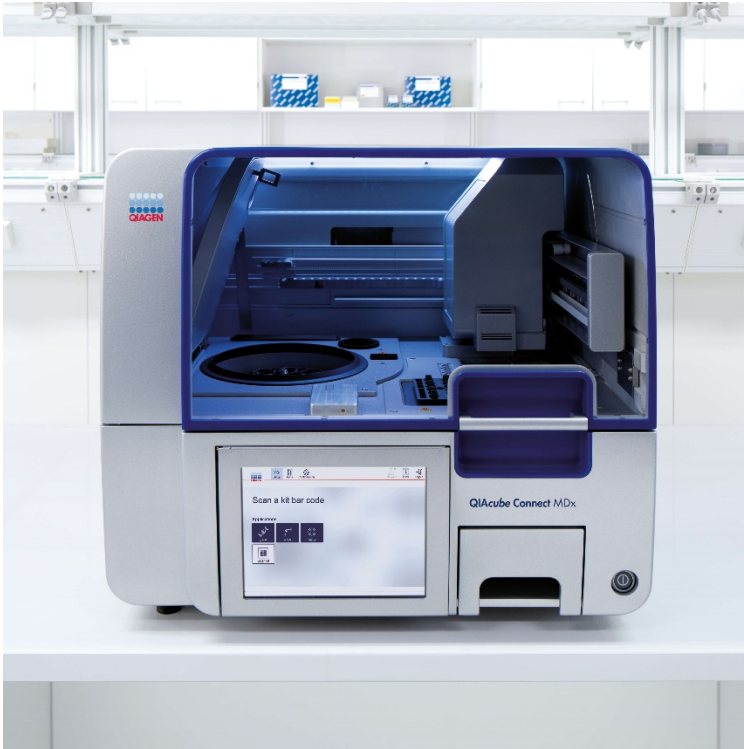
De QIAcube en QIAcube Connect MDx voeren geautomatiseerde isolatie en zuivering van nucleïnezuren uit. Er kunnen tot wel 12 monsters per run worden verwerkt.

Bij monsterbereiding met de QIAcube en de QIAcube Connect MDx worden dezelfde stappen gevolgd als bij de handmatige procedure (d.w.z. lyseren, binden, wassen en elueren), zodat u verder kunt gaan met het zuiveren van hoogwaardig DNA met de QIAamp DSP DNA Mini Kit.

Wanneer u de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit geautomatiseerd verwerkt met de QIAcube of QIAcube Connect MDx, verwerkt het instrument mogelijk minder dan 50 monsters. Dit wordt veroorzaakt door dode volumes, verdamping en extra verbruik van reagentia door geautomatiseerd pipetteren. QIAGEN garandeert een verwerking van 50 monsters alleen bij handmatig gebruik van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



Afbeelding 1. De QIAcube.



Afbeelding 2. De QIAcube Connect MDx.

De QIAamp DSP DNA Blood Mini-centrifugeer- en vacuümprocedures

Centrifugeerprocedure QIAamp

Vacuümprocedure QIAamp

Lees de protocollen (pagina 24 en 28) zorgvuldig door voordat u begint.

Monster



Lyseren



Binden



Wassen
(Buffer AW1)



Wassen
(Buffer AW2)

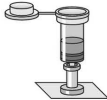


Elueren

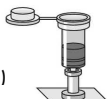


Zuiver genomisch of viraal DNA

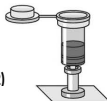
Monster



Vacuumeren



Vacuumeren



Vacuumeren



Overbrengen naar LT, 20 µl QP, 200 µl monstermateriaal en 200 µl AL toevoegen. 15 sec vortexen.
Incubeer gedurende 10 min (± 1 min) bij 56 °C (± 1 °C).
200 µl ethanol toevoegen.
15 sec vortexen.

Lysaat overbrengen naar QIAamp Mini-spin kolom.

Centrifugeerprocedure: 1 min centrifugeren met 6000 x g.

Vacuümprocedure: Vacuüm toepassen.

Centrifugeerprocedure: QIAamp Mini-spin kolom in nieuwe WT plaatsen, 500 µl AW1 toevoegen en 1 min centrifugeren met 6000 x g.

Vacuümprocedure: 750 µl AW1 toevoegen en vacuüm toepassen.

Centrifugeerprocedure: QIAamp Mini-spin kolom in nieuwe WT plaatsen, 500 µl AW2 toevoegen en 1 min centrifugeren op volle snelheid (ongeveer 20.000 x g of 14.000 tpm).

Vacuümprocedure: 750 µl AW2 toevoegen en vacuüm toepassen.

QIAamp Mini-spin kolom in WT plaatsen.

3 min centrifugeren op volle snelheid (ongeveer 20.000 x g of 14.000 tpm).

QIAamp Mini-spin kolom in ET plaatsen.

50–200 µl AE toevoegen en 1 min incuberen.

1 min centrifugeren met 6000 x g.

Samenvatting en uitleg

De QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit maakt gebruik van gerenommeerde technologie om genomisch DNA snel en eenvoudig uit 200 µl volbloed te isoleren en te zuiveren.







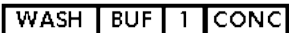
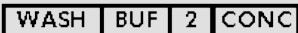




De procedures voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini zijn geschikt voor het gelijktijdig verwerken van meerdere bloedmonsters en resulteren in gezuiverd DNA dat klaar is voor gebruik. De procedures kunnen worden toegepast bij vers of bevroren volbloed en bloed dat is behandeld met citraat of EDTA.

De eenvoudige centrifugeer- en vacuümprocedures van QIAamp DSP zijn geschikt om meerdere monsters gelijktijdig te verwerken. Een aantal van de QIAamp-centrifugeerprocedures kunnen volledig geautomatiseerd worden uitgevoerd met de QIAcube of QIAcube Connect MDx, zodat u meer gestandaardiseerd en nog gebruiksvriendelijker kunt werken (pagina 7).

Het is niet nodig om vooraf leukocyten te scheiden. Voor de procedures is geen extractie van fenol/chloroform of alcoholprecipitatie nodig en hoeft u weinig handelingen uit te voeren, waardoor u veilig kunt werken met mogelijk besmettelijke monsters. Daarbij zijn de procedures gericht op het minimaliseren van kruisbesmetting tussen monsters. Het gezuiverde DNA kan direct worden gebruikt voor PCR of andere toepassingen, maar kan ook worden bewaard bij -25 °C tot -15 °C voor later gebruik.

Meegeleverde materialen

Inhoud van de kit

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
Catalogusnr.			61104
Aantal preparaten			50*
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (WT) (QIAamp Mini Spin Columns met wasbuisjes) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Elutiebuisjes) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (Lysisbuisjes) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Wasbuisjes) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer (Lysisbuffer) [†]		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Wasbuffer 1) [†] (concentraat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Wasbuffer 2) [‡] (concentraat)		13 ml
AE	Elution Buffer (Elutiebuffer) [‡]		25 ml
PS	Protease Solvent (Proteaseoplosmiddel) [‡]		2 ml
QP	QIAGEN Protease [§]		1 flacon
-	Gebruiksaanwijzing (Handleiding)		1

* Wanneer u de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit geautomatiseerd verwerkt met de QIAcube of QIAcube Connect MDx, verwerkt het instrument mogelijk minder dan 50 monsters. Dit wordt veroorzaakt door dode volumes, verdamping en extra verbruik van reagentia door geautomatiseerd pipetteren. QIAGEN garandeert een verwerking van 50 monsters alleen bij handmatig gebruik van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

[†] Bevat guanidinehydrochloride. Niet geschikt voor gebruik met bleekhoudende desinfectiemiddelen. Zie Veiligheidsinformatie op pagina 14 voor meer informatie.

[‡] Bevat natriumazide als conserveermiddel.

[§] Resuspensievolume 1,2 ml. Zie 'Reagentia en buffers bereiden' op pagina 19.

Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

Voor de centrifugeer- en vacuümprocedures

- Ethanol (96–100%)
- Pipetten* en pipetpuntjes (om kruisbesmetting te voorkomen, adviseren wij dringend om pipetpuntjes met aerosolfilter te gebruiken)
- Wegwerphandschoenen
- Verwarmblok* voor het lyseren van monsters bij 56 °C (wij adviseren de Eppendorf® Thermomixer® comfort met thermoblok voor microtestbuisjes van 1,5 ml[†])
- Microcentrifuge*
- Meetcilinder (50 ml)
- Vortexer

Alleen voor de vacuümprocedure

- QIAvac 24 Plus-vacuümsysteem (cat.nr. 19413) of equivalent
- VacConnectors (cat.nr. 19407)
- VacValves (cat.nr. 19408)
- QIAvac Connecting System (cat.nr. 19419)
- Vacuum Pump (cat.nr. 84020)
- Vacuum Regulator (cat.nr. 19530)

* Om te zorgen voor een goede verwerking van monsters tijdens de procedures met de QIAamp DSP DNA Blood Mini raden wij ten eerste aan alle instrumenten (d.w.z. pipetten en verwarmblokken) te kalibreren volgens de aanbevelingen van de betreffende fabrikant.

[†] Dit is geen volledige lijst van leveranciers; veel belangrijke leveranciers van biotechnologische artikelen zijn niet in deze lijst opgenomen.

Alleen voor de geautomatiseerde procedure

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

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Onthoud dat u verplicht bent om ernstige incidenten die hebben plaatsgevonden in verband met gebruik van het hulpmiddel te melden bij de fabrikant en de regelgevende instantie van de locatie waar de gebruiker en/of de patiënt zich bevindt.

Veiligheidsinformatie

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's). Deze zijn als handige en compacte PDF online beschikbaar op www.qiagen.com/safety. Hier kunt u ook de VIB voor elke QIAGEN-kit en elk onderdeel van de kit vinden, bekijken en afdrukken.



LET OP: Voeg geen bleekmiddel of zuuroplossingen rechtstreeks toe aan het afval van monsterbereiding.

Lysisbuffer (AL) en wasbuffer 1 (AW1) bevatten guanidinehydrochloride, dat sterk reactieve verbindingen kan vormen met bleekwater. Als u een vloeistof hebt gemorst die deze buffer bevat, moet die worden opgenomen met een geschikt laboratoriumreinigingsmiddel en water. Reinig de verontreinigde plek eerst met laboratoriumreinigingsmiddel en water en vervolgens met 1% (v/v) natriumhypochloriet als de gemorste vloeistof mogelijk infectieuze stoffen bevat. Draag handschoenen en een veiligheidsbril wanneer u beschadigde of lekkende bufferflessen weggooit om persoonlijk letsel of letsel aan anderen te voorkomen.

QIAGEN heeft het vloeibare afval dat vrijkomt bij de procedures met de QIAamp DSP DNA Blood Mini niet getest op achtergebleven besmettelijke materialen. Besmetting van het vloeibare afval met achtergebleven besmettelijke materialen is onwaarschijnlijk, maar kan niet volledig worden uitgesloten.

Behandel vloeibaar afval daarom als besmettelijk en handel bij het verwerken en afvoeren ervan in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsvoorschriften.

De volgende risico- en veiligheidszinnen zijn van toepassing op onderdelen van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Lysisbuffer (AL) en wasbuffer 1 (AW1)



Bevat: guanidinehydrochloride. Waarschuwing! Schadelijk bij inslikken en bij inademing. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen.

QIAGEN Protease (QP)



Bevat: subtilisine. Gevaar! Schadelijk bij opname door de mond. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogschade. Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken. Kan irritatie aan de luchtwegen veroorzaken. Vermijd het inademen van stof/rook/gas/damp/nevel/spray. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. Draag ademhalingsbescherming. BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig spoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk. Blijven spoelen. NA (mogelijke) blootstelling: Neem onmiddellijk contact op met een GIFCENTRUM of arts. Het slachtoffer in de frisse lucht brengen en laten rusten in een houding die het ademen vergemakkelijkt.



Opslag en hantering van reagentia

QIAamp Mini-spinkolommen moeten na aankomst worden bewaard bij 2–8 °C en kunnen worden gebruikt tot de houdbaarheidsdatum die op de verpakking van de kit staat vermeld.

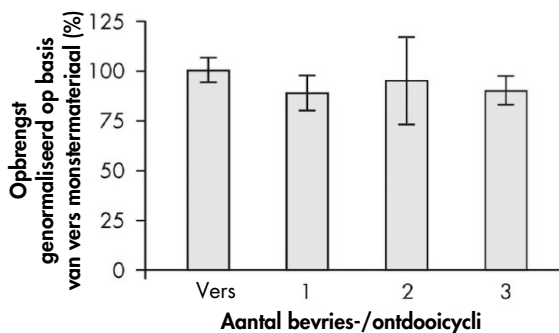
Alle buffers kunnen tot de houdbaarheidsdatum van de kit worden bewaard bij kamertemperatuur (15–25 °C).

Gelyofiliseerd QIAGEN Protease (QP) kan tot de houdbaarheidsdatum van de kit worden bewaard bij kamertemperatuur (15–25 °C) zonder aan werking te verliezen. Gereconstitueerd QIAGEN Protease is maximaal 1 jaar of tot de houdbaarheidsdatum van de kit stabiel als het wordt bewaard bij 2–8 °C.

Gereconstitueerde wasbuffer 1 (AW1) en gereconstitueerde wasbuffer 2 (AW2) zijn maximaal 1 jaar of tot de houdbaarheidsdatum van de kit stabiel als ze worden bewaard bij kamertemperatuur (15–25 °C).

Bewaren en hanteren van specimens

Het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom kan verstopt raken door cryoprecipitaten die worden gevormd tijdens het ontdooien van bevroren monsters. Probeer zichtbare cryoprecipitaten niet op te zuigen terwijl u het monstermateriaal opzuigt. De effecten van het bevriezen en ontdooien van bloedmonsters tijdens zuivering van DNA met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit zijn vastgesteld (zie afbeelding 3).



Afbeelding 3. Effecten van het bevriezen en ontdooien van bloedmonsters. Met EDTA behandeld bloed is maximaal 3 keer bevroren en ontdooid, waarna het DNA is gezuiverd met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. De berekende DNA-opbrengst is genormaliseerd op basis van de opbrengst van vers monstermateriaal (100%). Elke balk in de grafiek representeert de resultaten van 32 replica's (gemiddelde ± standaardafwijking).

De hoeveelheid gezuiverd DNA dat wordt verkregen door de procedures met de QIAamp DSP DNA Blood Mini is afhankelijk van de hoeveelheid witte bloedcellen in elk bloedmonster. Aan de hand van de centrifugeer- of vacuümprocedure wordt genomisch DNA gezuiverd uit 200 µl bloed van gezonde donoren. Er kunnen verschillende soorten primaire buisjes en anticoagulantia worden gebruikt om bloed af te nemen voor de procedures met de QIAamp DSP DNA Blood Mini (tabel 1).

Tabel 1. Gemiddelde relatieve opbrengst van DNA uit bloedmonsters die zijn afgenomen met behulp van verschillende soorten primaire buisjes en anticoagulantia

Primair buisje	Fabrikant	Cat.nr.	Nominaal volume	Gemiddelde opbrengst*
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 CPDA 1	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

Er werd genomisch DNA gezuiverd uit 200 µl bloed van gezonde donoren (4,0 tot 9,0 x 10⁶ cellen per ml).

* Voor elk primair buisje is de opbrengst vastgesteld op basis van 11 in drievoud geteste monsters.

Achtergebleven verontreinigingen verwijderen

Terwijl het genomisch DNA gebonden blijft aan het membraan van de QIAamp Mini Spin Column, worden verontreinigingen doeltreffend weggespoeld met wasbuffer 1 (AW1) en daarna met wasbuffer 2 (AW2).

Zuiver genomisch DNA elueren

Genomisch DNA wordt geëluëerd van het membraan van de QIAamp Mini Spin Column met 50–200 µl elutiebuffer (AE). Het geëluëerde DNA kan direct worden gebruikt voor verschillende vervolgassays, waaronder diverse vervolgassays voor in-vitrodiagnostiek.

Belangrijke opmerkingen

Belangrijke punten voordat u start met een protocol

- Controleer na ontvangst van de kit of de onderdelen van de kit niet zijn beschadigd. Neem contact op met de technische dienst van QIAGEN of uw plaatselijke leverancier als de blisterverpakkingen of flesjes met buffer zijn beschadigd. Raadpleeg in geval van gemorste vloeistof 'Veiligheidsinformatie' (pagina 14). Gebruik geen onderdelen van de kit die zijn beschadigd, omdat dit kan leiden tot een verminderde werking van de kit.
- Gebruik iedere keer na het overbrengen van vloeistof een nieuwe pipetpunt. Om het risico op kruisbesmetting te minimaliseren, adviseren wij om gebruik te maken van pipettips met aerosolfilter.
- Alle centrifugatiestappen moeten worden uitgevoerd bij kamertemperatuur (15–25 °C).
- Draag altijd wegwerphandschoenen en controleer regelmatig of deze niet zijn verontreinigd met materiaal uit een monster. Gooi de handschoenen weg als u denkt dat ze zijn verontreinigd.
- Open niet meer dan één buisje tegelijk om het risico op kruisbesmetting te minimaliseren.

- Gebruik geen onderdelen uit andere kits met de kit die u op dit moment gebruikt, tenzij de partijnummers identiek zijn.
- Voorkom microbiële besmetting van de reagentia van de kit.
- Om het risico op besmetting door mogelijk besmettelijk materiaal te minimaliseren, adviseren wij om te werken in een laminaire luchtstroomkast totdat de monsters zijn gelyseerd.
- Deze kit mag alleen worden gebruikt door mensen die zijn opgeleid op het gebied van laboratoriumwerkwijzen voor in-vitrodiagnostiek.

Reagentia en buffers bereiden

- QIAGEN Protease bereiden

Voeg 1,2 ml proteaseoplosmiddel (PS) toe aan de flacon met gelyofiliseerde QIAGEN Protease (QP) en meng voorzichtig. Meng de inhoud van de flacon door deze meerdere keren om te keren. Zo voorkomt u dat het mengsel gaat schuimen. Zorg ervoor dat de QIAGEN Protease (QP) volledig wordt opgelost.

Belangrijk: Voeg QIAGEN Protease (QP) niet rechtstreeks toe aan lysisbuffer (AL).

- Wasbuffer 1 bereiden

Voeg met behulp van een maatcilinder 25 ml ethanol (96–100%) toe aan de fles met 19 ml wasbuffer 1-concentraat (AW1). Bewaar de gereconstitueerde wasbuffer 1 (AW1) bij kamertemperatuur (15–25 °C).

Belangrijk: Meng de gereconstitueerde wasbuffer 1 (AW1) altijd door de fles meerdere keren om te keren voordat u de procedure start.

- Wasbuffer 2 bereiden

Voeg met behulp van een maatcilinder 30 ml ethanol (96–100%) toe aan de fles met 13 ml wasbuffer 2-concentraat (AW2). Bewaar de gereconstitueerde wasbuffer 2 (AW2) bij kamertemperatuur (15–25 °C).

Belangrijk: Meng de gereconstitueerde wasbuffer 2 (AW2) altijd door de fles meerdere keren om te keren voordat u de procedure start.

- Elutiebuffer bereiden

De kit bevat één fles elutiebuffer (AE). Om besmetting van elutiebuffer (AE) te voorkomen, adviseren wij dringend om pipetpunten met aerosolfilters te gebruiken wanneer u de elutiebuffer (AE) uit de fles pipetteert en om de dop van de fles direct erna weer terug te plaatsen.

Belangrijk: Elutiebuffer (AE) bevat het conserveringsmiddel natriumazide, dat absorbeert bij 260 nm. Zorg er daarom voor dat het blanco monster dezelfde concentratie natriumazide bevat als het eluaat wanneer u de hoeveelheid DNA in het eluaat vaststelt met behulp van absorptiemetingen bij 260 nm, wanneer u de zuiverheid van het DNA in het eluaat bepaalt met behulp van absorptiemetingen bij 260 nm of 280 nm of wanneer u wilt vaststellen wanneer absorptie plaatsvindt bij 220 nm tot 350 nm. Als u bijvoorbeeld eluaat bereidt voor absorptiemetingen door 50 µl eluaat te verdunnen met 100 µl water, moet u het blanco monster bereiden door 50 µl elutiebuffer (AE) te verdunnen met 100 µl water. Bereid de verdunningen met schoon, gedestilleerd water.

Werken met QIAamp Mini-spinkolommen

Omdat de technieken waarin gebruik wordt gemaakt van nucleïnezuuramplificatie erg gevoelig zijn, moeten tijdens het werken met QIAamp Mini-spinkolommen de volgende voorzorgsmaatregelen worden toegepast om kruisbesmetting tussen verschillende monsterbereidingen te voorkomen:

- ga zorgvuldig te werk bij het aanbrengen van het monster of de oplossing op de QIAamp Mini-spinkolom. Pipetteer het monster naar de QIAamp Mini-spinkolom zonder de rand van de kolom te bevochtigen;
- Gebruik iedere keer na het overbrengen van vloeistof een nieuwe pipetpunt. Wij adviseren om gebruik te maken van pipetpunten met aerosolfilter.
- Raak het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom niet aan met de pipetpunt.
- Centrifugeer de microcentrifugebuisjes kort na elke vortexstap om eventuele druppeltjes aan de onderkant van de dop te verwijderen.

- open niet meer dan één QIAamp Mini-spinkolom tegelijk en zorg dat er geen aerosolen kunnen worden gevormd;
- draag tijdens de gehele procedure handschoenen. Als de handschoenen in aanraking komen met het monster dienen de handschoenen onmiddellijk te worden vervangen.

Genomisch DNA elueren

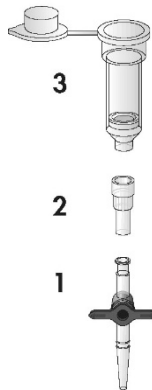
Het volume van het DNA dat is geëluëerd uit een QIAamp Mini-spinkolom kan tot 20 µl minder zijn dan het volume van de elutiebuffer (AE) die is aangebracht op de kolom. Het volume van het eluaat dat wordt verkregen, is afhankelijk van de aard van het monster. Elutiebuffer (AE) moet voordat deze wordt aangebracht op de kolom op kamertemperatuur (15–25 °C) zijn gekomen. Geëluëerd DNA wordt verzameld in elutiebusjes (ET). Voor de opslag van DNA gedurende maximaal 4 weken, adviseren wij een opslagtemperatuur van 2–8 °C. Voor langdurige opslag adviseren wij een opslagtemperatuur van –30 tot –15 °C.

Opbrengst en kwaliteit van genomisch DNA

De opbrengst en kwaliteit van het geïsoleerde, genomische DNA zijn geschikt voor veel soorten vervolgdetectieprocedures in moleculaire diagnostiek. Diagnostische assays moeten worden uitgevoerd in overeenstemming met de aanwijzingen van de fabrikant.

Het QIAvac 24 Plus-vacuümsysteem configureren

Zorg ervoor dat de QIAamp Mini-spinkolom, de VacConnector (VC) en het VacValve correct zijn geïnstalleerd (zie afbeelding 4).



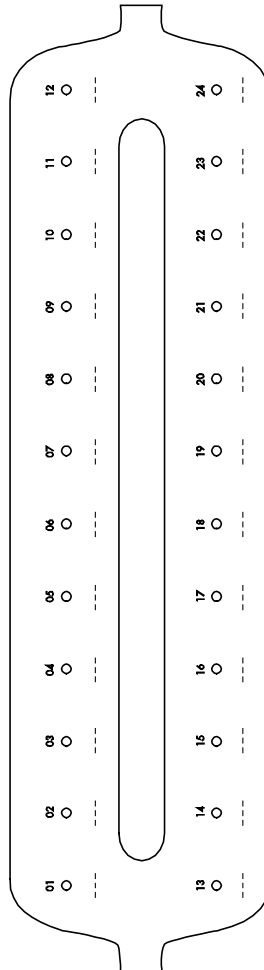
Afbeelding 4. De onderdelen van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit in elkaar zetten voor het vacuüm verwerken van monsters. (1) VacValve (2) VacConnector (VC) (3) QIAamp Mini-spinkolom

Als u werkt aan de hand van de vacuümprocedure met het QIAvac 24 Plus-vacuümsysteem, adviseren wij om de lysisbuisjes (LT), elutiebuisjes (ET) en de QIAamp Mini-spinkolom te voorzien van een etiket volgens het schema in afbeelding 5 (zie volgende pagina) om te voorkomen dat monsters met elkaar worden verward. U kunt deze afbeelding kopiëren en op de kopie de namen van de monsters invullen. Als u een ander vacuümsysteem of de centrifugeerprocedure gebruikt, adviseren wij om een vergelijkbaar schema te gebruiken.

Datum: _____

Gebruiker: _____

Run-ID: _____



Afbeelding 5. Etiketteerschema voor lysisbuisjes (LT), elutiebuisjes (ET) en QIAamp Mini-spinkolommen voor gebruik met het QIAvac 24 Plus-vacuümsysteem.

Procedure

Protocol: isolatie en zuivering van genomisch DNA uit bloedmonsters met behulp van een vacuümsysteem

Voor isolatie en zuivering van genomisch DNA uit 200 µl volbloed dat is behandeld met EDTA of citraat met behulp van een vacuümsysteem, zoals het QIAvac 24 Plus-vacuümsysteem.

Wat u moet weten voordat u begint

In onderstaande procedure staan instructies voor het verwerken van één bloedmonster. Met het QIAvac 24 Plus-vacuümsysteem kunt u echter tot 24 monsters gelijktijdig verwerken.

Wat u moet doen voordat u begint

- Laat de bloedmonsters op kamertemperatuur komen en controleer of ze goed zijn gemengd.
- Los precipitaat dat zich mogelijk heeft gevormd in de lysisbuffer (AL) op door deze te incuberen bij 56 °C.
- Controleer of wasbuffer 1 (AW1), wasbuffer 2 (AW2) en QIAGEN Protease (QP) is bereid volgens de instructies in de paragraaf 'Reagentia en buffers bereiden' op pagina 19.
- Laat de elutiebuffer (AE) op kamertemperatuur komen voor gebruik in stap 14.
- Stel een verwarmblok in op 56 °C om te gebruiken in stap 4.
- Sluit een VacConnector (VC) aan op elke Luer-adapter van het vacuümsysteem om het risico op kruisbesmetting te minimaliseren.
- Tijdens de procedures voor kwaliteitscontrole van QIAGEN worden op iedere afzonderlijke kitpartij functionele testen uitgevoerd. Meng daarom geen reagentia uit kits uit verschillende partijen, en voeg geen reagentia uit verschillende partijen samen.
- Controleer of de afvalflus van het vacuümsysteem leeg is en of alle koppelingen goed zijn aangesloten.
- Raadpleeg de meegeleverde handleiding voor meer informatie over de werking en met name het onderhoud van het vacuümsysteem.

Procedure

1. Pipetteer 20 µl QIAGEN Protease (QP) naar een lysisbuisje (LT).

Opmerking: Controleer voor gebruik de vervaldatum van de gereconstitueerde protease.

2. Voeg 200 µl van het bloedmonster toe aan het lysisbuisje (LT).
3. Voeg 200 µl lysisbuffer (AL) toe aan het lysisbuisje (LT), sluit het deksel en meng de inhoud gedurende 15 sec. met een puls-vortexmixer.

Voor efficiënte lysis is het essentieel dat het monster en de lysisbuffer (AL) grondig worden gemengd tot een homogene oplossing.

Opmerking: Aangezien lysisbuffer (AL) een hoge viscositeit heeft, moet u ervoor zorgen dat u het juiste volume aan lysisbuffer (AL) toevoegt door zorgvuldig te pipetteren of door een geschikte pipet te gebruiken.

Opmerking: Voeg QIAGEN Protease (QP) niet rechtstreeks toe aan lysisbuffer (AL).

4. Incubeer bij 56 °C (\pm 1 °C) gedurende 10 minuten (\pm 1 min).
5. Centrifugeer het lysisbuisje (LT) gedurende \geq 5 sec. op volle snelheid om druppels van de binnenkant van het deksel te verwijderen.
6. Voeg 200 µl ethanol (96–100%) toe aan het lysisbuisje (LT), sluit het deksel en meng de inhoud grondig gedurende \geq 15 sec. met een puls-vortexmixer.
7. Centrifugeer het lysisbuisje (LT) gedurende \geq 5 sec. op volle snelheid om druppels van de binnenkant van het deksel te verwijderen.
8. Sluit de QIAamp Mini-spinkolom aan op de VacConnector (VC) van het vacuümsysteem. Controleer of het hoofdventiel (tussen het vacuümsysteem en het vacuümverdeelstuk) en het schroefopventiel (op het vacuümverdeelstuk) zijn gesloten. Schakel de vacuümpomp in.

Gooi het wasbuisje (WT) (2 ml) waarin de QIAamp Mini-spinkolom is geplaatst weg in de blisterverpakking.

Het vacuüm wordt alleen toegepast op het verbindingssysteem (als dat wordt gebruikt) en niet op het vacuümverdeelstuk.

9. Breng het volledige lysaat van stap 7 over naar de QIAamp Mini-spinkolom zonder de rand te bevochtigen. Raak het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom niet aan met de pipetpunt.

Opmerking: Als u meerdere monsters verwerkt, opent u slechts één lysisbuisje (LT) tegelijk.
10. Open het hoofdvacuümventiel. Sluit het hoofdvacuümventiel en open het schroefdoventiel op het vacuümverdeelstuk om het vacuüm op te heffen nadat het lysaat het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom is gepasseerd. Sluit het schroefdoventiel nadat het vacuüm in het verdeelstuk is opgeheven.

Nadat het hoofdvacuümventiel is gesloten, wordt het vacuüm alleen toegepast op het verbindingssysteem (als dat wordt gebruikt) en niet op het vacuümverdeelstuk.

Opmerking: Gebruik het schroefdoventiel op het vacuümverdeelstuk om het vacuüm snel op te heffen.

Opmerking: Als u meerdere QIAamp Mini-spinkolommen gelijktijdig verwerkt, adviseren wij om de VacValve van elke kolom te sluiten nadat het lysaat is gepasseerd, zodat deze vacuümstap sneller verloopt.

Opmerking: Plaats, als het lysaat na 10 min. nog niet volledig het membraan is gepasseerd, de QIAamp Mini-spinkolom in een schoon wasbuisje, sluit het deksel en centrifugeer het buisje 3 min. met 6000 x g (8000 tpm) of totdat het lysaat het membraan volledig is gepasseerd. Plaats de QIAamp Mini-spinkolom in een ander schoon wasbuisje (WT) en ga verder met stap 10 van het protocol op pagina 30.

Opmerking: Gooi het monster weg en herhaal de stappen voor isolatie en zuivering met nieuw monstermateriaal vanaf stap 1 op pagina 29 als het lysaat tijdens het centrifugeren nog steeds niet het membraan passeert.

11. Voeg 750 µl wasbuffer 1 (AW1) toe aan de QIAamp Mini-spinkolom zonder de rand te bevochtigen. Raak het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom niet aan met de pipetpunt. Laat het deksel van de kolom geopend en open het hoofdvacuümventiel. Sluit het hoofdvacuümventiel nadat de wasbuffer 1 (AW1) het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom is gepasseerd en open het schroefdoventiel om het vacuüm op te heffen. Sluit het schroefdoventiel nadat het vacuüm in het verdeelstuk is opgeheven.

12. Voeg 750 µl wasbuffer 2 (AW2) toe aan de QIAamp Mini-spinkolom zonder de rand te bevochtigen. Raak het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom niet aan met de pipetpunt. Laat het deksel van de kolom geopend en open het hoofdvacuümventiel. Sluit het hoofdvacuümventiel nadat de wasbuffer 2 (AW2) het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom is gepasseerd en open het schroefdopventiel om het vacuüm op te heffen. Sluit het schroefdopventiel nadat het vacuüm in het verdeelstuk is opgeheven.

13. Sluit het deksel van de QIAamp Mini-spinkolom, verwijder deze van het vacuümsysteem en gooi de VacConnector (VC) weg. Plaats de QIAamp Mini-spinkolom in een schoon wasbuisje (WT) en centrifugeer dit buisje 3 min. op volle snelheid (ongeveer 20.000 x g of 14.000 tpm) om het membraan volledig te drogen.

Opmerking: Als u het membraan niet droog centrifugeert, kan dit negatieve invloed hebben op de vervolgassay.

14. Plaats de QIAamp Mini-spinkolom in een schoon elutiebuisje (ET) en gooi het spoelbuisje (WT) met het filtraat weg. Open voorzichtig het deksel van de QIAamp Mini-spinkolom en breng 50 tot 200 µl elutiebuffer (AE) over naar het midden van het membraan. Sluit het deksel en incubeer 1 min. bij kamertemperatuur. Centrifugeer 1 min. bij 6000 x g (8000 tpm) om het DNA te elueren.

Opmerking: Volg de onderhoudsprocedure voor het vacuümsysteem na het uitvoeren van dit protocol (zie de meegeleverde handleiding van het vacuümsysteem voor uitgebreidere informatie).

Protocol: Isolatie en zuivering van genomisch DNA uit bloedmonsters met behulp van een microcentrifuge of QIAcube/QIAcube Connect MDx

Voor isolatie en zuivering van genomisch DNA uit 200 µl volbloed dat is behandeld met EDTA of citraat met behulp van een microcentrifuge of geautomatiseerd op de QIAcube of QIAcube Connect MDx.

Wat u moet weten voordat u begint

- In onderstaande procedure staan instructies voor het verwerken van één bloedmonster. U kunt echter meerdere monsters gelijktijdig verwerken; het aantal is afhankelijk van de capaciteit van de gebruikte microcentrifuge.
- Op de QIAcube of QIAcube Connect MDx kan geautomatiseerde verwerking van 2–10 of 12 monsters worden uitgevoerd.
- Voor automatisering volgt u de instructies op de protocolbladen (QIAcube) of het softwarescherm (QIAcube Connect MDx) en de *gebruikershandleiding voor de QIAcube of QIAcube Connect MDx*.

Wat u moet doen voordat u begint

- Laat de bloedmonsters op kamertemperatuur komen en controleer of ze goed zijn gemengd.
- Los precipitaat dat zich mogelijk heeft gevormd in de lysisbuffer (AL) op door deze te incuberen bij 56 °C.
- Controleer of wasbuffer 1 (AW1), wasbuffer 2 (AW2) en QIAGEN Protease (QP) is bereid volgens de instructies in de paragraaf 'Reagentia en buffers bereiden' op pagina 19.
- Laat de elutiebuffer (AE) op kamertemperatuur komen voor gebruik in stap 15.
- Stel een verwarmblok in op 56 °C om te gebruiken in stap 4.
- Tijdens de procedures voor kwaliteitscontrole van QIAGEN worden op iedere afzonderlijke kitpartij functionele testen uitgevoerd. Meng daarom geen reagentia uit kits uit verschillende partijen, en voeg geen reagentia uit verschillende partijen samen.

Procedure

- Voor de handmatige procedure met een microcentrifuge volgt u stap 1 – 15.
 - Deze procedure kan worden geautomatiseerd in 3 verschillende versies:
 - Elutievolume: 100 µl volledige automatisering met 100 µl elutievolume (vanaf stap 1 beginnen)
 - Elutievolume: 200 µl volledige automatisering met 200 µl elutievolume (vanaf stap 1 beginnen)
 - Handmatige lysering: deels geautomatiseerd met handmatig lyseren zonder instrument (vanaf stap 5 beginnen)
1. Pipetteer 20 µl QIAGEN Protease (QP) naar een lysebuiscje (LT).

Opmerking: Controleer voor gebruik de vervaldatum van de gereconstitueerde protease.
 2. Voeg 200 µl van het bloedmonster toe aan het lysisbuisje (LT).
 3. Voeg 200 µl lysisbuffer (AL) toe aan het lysisbuisje (LT), sluit het deksel en meng de inhoud gedurende 15 sec. met een puls-vortexmixer.

Voor efficiënte lysis is het essentieel dat het monster en de lysisbuffer (AL) grondig worden gemengd tot een homogene oplossing.

Opmerking: Aangezien lysisbuffer (AL) een hoge viscositeit heeft, moet u ervoor zorgen dat u het juiste volume aan lysisbuffer (AL) toevoegt door zorgvuldig te pipetteren of door een geschikte pipet te gebruiken.

Opmerking: Voeg QIAGEN Protease (QP) niet rechtstreeks toe aan lysisbuffer (AL).
 4. Incubeer bij 56 °C (± 1 °C) gedurende 10 minuten (± 1 min).
 5. Centrifugeer het lysisbuisje (LT) gedurende ≥ 5 sec. op volle snelheid om druppels van de binnenkant van het deksel te verwijderen.

Opmerking: Als de handmatige lysering (stap 1 – 5) is uitgevoerd zonder instrument, kunnen de volgende stappen (stap 6 – 15) worden geautomatiseerd op de QIAcube of QIAcube Connect MDx met behulp van het protocol voor handmatige lysering.
 6. Voeg 200 µl ethanol (96–100%) toe aan het lysisbuisje (LT), sluit het deksel en meng de inhoud grondig gedurende ≥ 15 sec. met een puls-vortexmixer.

7. Centrifugeer het lysisbuisje (LT) gedurende ≥ 5 sec. op volle snelheid om druppels van de binnenkant van het deksel te verwijderen.
8. Breng het volledige lysaat van stap 7 over naar de QIAamp Mini-spinkolom zonder de rand te bevochtigen. Raak het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom niet aan met de pipetpunt.

Opmerking: Als u meerdere monsters verwerkt, opent u slechts één lysisbuisje (LT) tegelijk.

9. Sluit het deksel van de QIAamp Mini-spinkolom en centrifugeer 1 min. bij ongeveer $6000 \times g$. Plaats de QIAamp Mini-spinkolom in een schoon wasbuisje (WT) en gooi het buisje met het filtraat weg.

Opmerking: Als het lysaat na centrifugeren op $6000 \times g$ (8000 tpm) nog niet volledig het membraan is gepasseerd, centrifugeert u opnieuw op volledige snelheid (maximaal $20.800 \times g$) gedurende 1 min.

Opmerking: Gooi het monster weg en herhaal de stappen voor isolatie en zuivering met nieuw monstermateriaal vanaf stap 1 op pagina 29 als het lysaat tijdens het centrifugeren nog steeds niet het membraan passeert.

10. Open de QIAamp Mini-spinkolom voorzichtig en voeg 500 μ l wasbuffer 1 (AW1) toe zonder de rand te bevochtigen. Raak het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom niet aan met de pipetpunt.
11. Sluit het deksel van de QIAamp Mini-spinkolom en centrifugeer 1 min. bij ongeveer $6000 \times g$. Plaats de QIAamp Mini-spinkolom in een schoon wasbuisje (WT) en gooi het buisje met het filtraat weg.
12. Open de QIAamp Mini-spinkolom voorzichtig en voeg 500 μ l wasbuffer 2 (AW2) toe zonder de rand te bevochtigen. Raak het membraan van de QIAamp Mini-spinkolom niet aan met de pipetpunt.
13. Sluit het deksel van de QIAamp Mini-spinkolom en centrifugeer 1 min op volle snelheid (ongeveer $20.000 \times g$ ofwel 14.000 tpm). Plaats de QIAamp Mini-spinkolom in een schoon wasbuisje (WT) en gooi het buisje met het filtraat weg.
14. Centrifugeer op volle snelheid (ongeveer $20.000 \times g$, ofwel 14.000 tpm) gedurende 3 min. om het membraan volledig te drogen.

Opmerking: Als u het membraan niet droog centrifugeert, kan dit negatieve invloed hebben op de vervolgassay.

15. Plaats de QIAamp Mini-spinkolom in een schoon elutiebusje (ET) en gooi het spoelbusje (WT) met het filtraat weg. Open voorzichtig het deksel van de QIAamp Mini-spinkolom en breng 50 tot 200 μ l elutiebuffer (AE) over naar het midden van het membraan. Sluit het deksel en incubeer 1 min. bij kamertemperatuur. Centrifugeer 1 min. bij ongeveer 6000 x g (8000 tpm) om het DNA te elueren.

Belangrijke opmerking: Bij alle geautomatiseerde procedures verwijdert u het eluaat direct na een voltooide run uit het instrument en bewaart u deze naar behoren.

Kwaliteitscontrole

Elke partij QIAamp DSP DNA Blood Mini Kits wordt, in overeenstemming met het ISO-gecertificeerde kwaliteitsbeheersysteem van QIAGEN, getest op vooraf vastgestelde specificaties om een consistente kwaliteit van het product te waarborgen.

Beperkingen

De werking van het systeem is vastgesteld met behulp van volbloed voor de isolatie van genomisch DNA.

Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de systeemprestaties te valideren voor alle procedures die in het laboratorium worden uitgevoerd en die niet in de prestatieonderzoeken van QIAGEN worden behandeld.

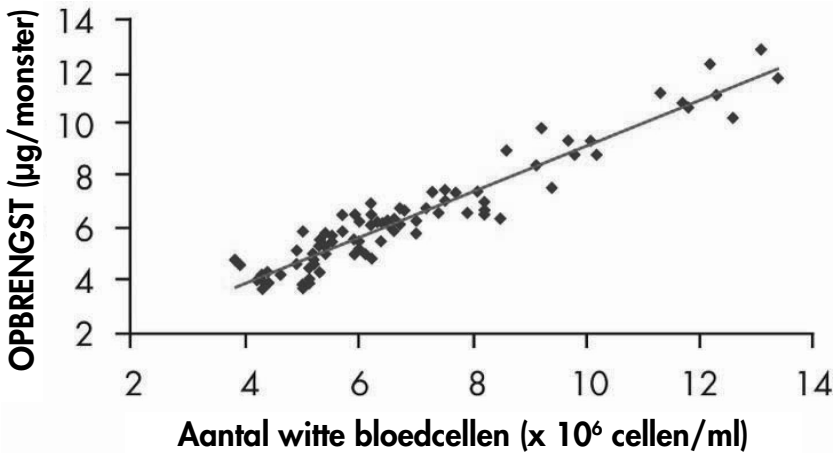
Om het risico van een negatieve invloed op de diagnostische resultaten zo klein mogelijk te houden, moeten de juiste controles worden gebruikt voor vervolgtoeepassingen. Voor verdere validering worden de richtlijnen van de 'International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH)' in: 'ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology', aanbevolen.

Gegenereerde diagnostische resultaten moeten worden geïnterpreteerd in combinatie met overige klinische bevindingen of laboratoriumresultaten.

Prestatiekenmerken

Opbrengst van gezuiverd DNA

Het lineaire bereik van de DNA-opbrengst met behulp van de vacuümprocedure voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini is vastgesteld bij bloed van gezonde donoren met $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ witte bloedcellen/ml (zie afbeelding 6).



Afbeelding 6. Lineair bereik van de DNA-opbrengst met behulp van de vacuümprocedure voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini met een elutievolume van 200 µl. Het aantal witte bloedcellen is vastgesteld bij gezonde donoren op $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ cellen/ml. Het DNA werd gezuiverd uit bloedmonsters met behulp van de vacuümprocedure voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini met een elutievolume van 200 µl. Er zijn 87 monsters in drievoud verwerkt.

Werking in vervolgassays

Het geëluereerde genomische DNA is klaar voor gebruik in verschillende vervolgassays, waaronder uiteenlopende diagnostische in-vitro vervolgassays (tabel 2 tot tabel 6). De effecten van elutievolume en het volume van eluaat dat wordt gebruikt voor PCR op de werking van PCR zijn vastgesteld (zie tabel 7).

Tabel 2. HLA-typering met behulp van de Dynal® AllSet™ SSP-assays HLA-A 'Low Resolution', HLA-B 'Low Resolution', DR 'Low Resolution' en 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 of B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 of DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 of 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	Overige	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Overige	0			DR15	1	Overige	0
				DR1/DR7	1		
				Overige	0		

Na de afname van volbloed bij individuele donoren werd genomisch DNA gezuiverd uit 200 µl volbloed met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Met behulp van Dynal *AllSet*™ SSP-assays (Thermo Fisher Scientific of diens dochterondernemingen) werden allelen geïdentificeerd op de aangegeven loci bij het aangegeven aantal personen. Nr.: aantal personen.

Tabel 3. Genotypering van Factor V Leiden met behulp van de LightCycler® Factor V Leiden-mutatiedetectiekit

Genotype	Nummer
Wildtype	17
FV G16191 A heterozygoot	13
FV G16191 A homozygoot	0

Na de afname van volbloed bij 30 individuele donoren werd genomisch DNA gezuiverd uit 200 µl volbloed met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. De allelstatus op de locus FV G1691 A werd vastgesteld met behulp van de LightCycler Factor V Leiden-mutatiedetectiekit (Roche Group).

Tabel 4. Genotypering van Factor V Leiden met behulp van eindpunt-PCR en Pyrosequencing®-analyse met de PSQ-96 SNP-Reagent Kit op de Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotype	Nummer
Wildtype	17
FV G16191 A heterozygoot	13
FV G16191 A homozygoot	0

Na de afname van volbloed bij 30 individuele donoren werd genomisch DNA gezuiverd uit 200 µl volbloed met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. De allelstatus van de locus FV G1691 A werd vastgesteld met behulp van eindpunt-PCR en Pyrosequencing-analyse met de PSQ-96 SNP-Reagent Kit op de Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabel 5. Genotypering van protrombine (PT) met behulp van eindpunt-PCR en Pyrosequencing-analyse met de PSQ-Q96 SNP-Reagent Kit op de Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotype	Nummer
Wildtype	30
PT G20210A heterozygoot	0
PT G20210A homozygoot	0

Na de afname van volbloed bij 30 individuele donoren werd genomisch DNA gezuiverd uit 200 µl volbloed met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. De allelstatus van de locus PT G20210A werd vastgesteld met behulp van eindpunt-PCR en Pyrosequencing-analyse met de PSQ-96 SNP-Reagent Kit op de Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabel 6. Analyse van ApoE-polyformismen T112C en C158T met behulp van PCR, met sequentiëring van het amplicon met behulp van de BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit en scheiding met de ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer

Genotype	Nummer
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Overige	0

Na de afname van volbloed bij 10 individuele donoren werd genomisch DNA gezuiverd uit 200 µl volbloed met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. De ApoE-polyformismen T112C en C158T werden geanalyseerd met behulp van eindpunt-PCR, met sequentiëring van het amplicon met behulp van de BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit en scheiding met de ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific of diens dochterondernemingen).

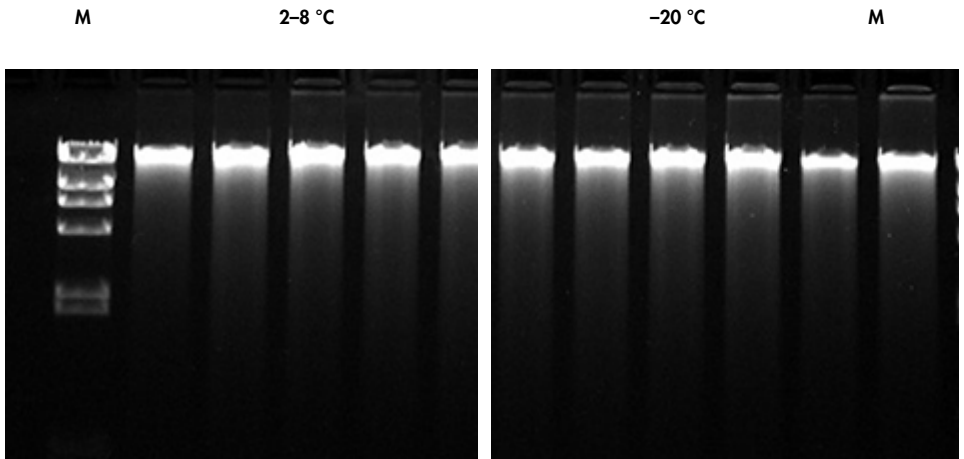
Tabel 7. De effecten van elutievolume en het volume van eluaat dat wordt gebruikt voor PCR op de werking van PCR

Elutievolume	Volume eluaat per 50 µl PCR*		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100%	100%	100%
100 µl	100%	100%	97%
200 µl	100%	100%	100%

* De waarden geven de PCR-scores weer en representeren het gemiddelde van 48 monsters.

Stabiliteit van het eluaat













Uit opslagtests met eluaat dat is gegeneerd met behulp van de QIAamp DNA Blood Mini Kit, een kit voor algemeen laboratoriumgebruik met identieke technologie, bleek dat DNA dat is geëluëerd uit QIAamp Mini Spin Column in Buffer AE gedurende 8 jaar stabiel was wanneer het werd bewaard bij 2 tot 8 °C of -30 tot -15 °C (afbeelding 7). Langdurige studies naar de stabiliteit van eluaat dat is verkregen met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit zijn echter nog niet afgerond.
















Afbeelding 7. Langdurige stabiliteit van DNA dat is geïsoleerd en gezuiverd met behulp van QIAamp Mini-spinkolommen. Het DNA werd gezuiverd met behulp van de QIAamp DNA Blood Mini Kit, geëluëerd in 200 µl Buffer AE en gedurende 8 jaar bewaard bij 2–8 °C of -20 °C. De DNA-monsters werden geanalyseerd op een agarosegel die was gekleurd met ethidiumbromide. M: marker.

Symbolen

De volgende symbolen kunnen in de gebruiksaanwijzing of op de verpakking en etiketten zijn weergegeven:

Symbol	Symbooldefinitie
	Bevat voldoende reagentia voor <N> reacties
	Uiterste gebruiksdatum
	In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel
	Bij aankomst
	Direct na aankomst openen; QIAamp Mini-spinkolommen bewaren bij 2-8 °C
	Catalogusnummer
	Partijnummer
	Materiaalnummer (m.b.t. labeling van componenten)
	Bestanddelen
	Bevat
	Nummer
	Artikelnummer wereldhandel
Rn	'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer

Symbol	Symboldefinitie
	Temperatuurbepering
	Fabrikant
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Volume
	Schrijf na toevoeging van ethanol aan het flesje de huidige datum op
	Toevoegen
	Gelyofiliseerd
	Reconstitueren in
	Ethanol
	Guanidinehydrochloride
	Subtilisine
	Resulteert in
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Belangrijke opmerking

Bestelgegevens

Product	Inhoud	Cat.nr.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Voor 50 DNA-bereidingen: QIAamp Mini-spinkolommen, VacConnectors, QIAGEN Protease, reagentia, buffers en verzamelbuisjes	61104
Verwante producten		
QIAcube Connect MDx*	Het instrument en één jaar garantie op onderdelen en arbeidsloon	9003070
Accessoires		
QIAvac 24 Plus vacuüm manifold†	Vacuümverdeelstuk voor het verwerken van 1–24 spinkolommen: QIAvac 24 Plus-vacuümverdeelstuk, Luer-doppen, snelkoppelingen	19413
Vacuum Pump†	Universele vacuümpomp	84020
VacConnectors†	500 wegwerpbare connectoren voor gebruik met QIAamp-spinkolommen op luer-connectoren	19407
Rotor Adapters	Voor 240 bereidingen: 240 wegwerprotoradapters en 240 elutiebusjes (1,5 ml) voor gebruik met de QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Houder voor 12 wegwerprotoradapters; voor gebruik met de QIAcube	990392

Product	Inhoud	Cat.nr.
Sample Tubes CB	1000 conische buisjes (2 ml) met schroefdop zonder starand voor gebruik met de QIAcube en QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Voor het laden van het QIAcube-schudderrek	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Reagensflessen (30 ml) met deksels; 6 in verpakking; voor gebruik met de QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Wegwerpfiltertips, in een rek; (8 x 128). Voor gebruik met de QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Wegwerpfiltertips, brede opening, in een rek; (8 x 128); niet vereist voor alle protocollen. Voor gebruik met de QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Wegwerpfiltertips, in een rek; (8 x 128). Voor gebruik in combinatie met de QIAcube- en QIASymphony SP/AS-instrumenten	990332

* De QIAcube Connect MDx is niet in alle landen verkrijgbaar. Neem voor meer informatie contact op met de technische diensten van QIAGEN.

† Voor gebruik met vacuümprotocollen.

Zie de handleiding of de gebruiksaanwijzing van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. Handleidingen en gebruikershandleidingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Revisiegeschiedenis van document

Revisie	Beschrijving
R2, 01/2021	<p>De paragrafen Geautomatiseerde zuivering op QIAcube/QIAcube Connect MDx, Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen en Protocol: Isolatie en zuivering van genomisch DNA uit bloedmonsters met behulp van een microcentrifuge of QIAcube/QIAcube zijn bijgewerkt.</p> <p>Referenties naar de QIAcube Connect MDx en bijbehorende accessoires toegevoegd.</p> <p>Referentie naar de cd verwijderd in de paragraaf Inhoud van de kit.</p> <p>Redactionele en opmaakwijzigingen.</p>

Deze pagina is met opzet leeg gelaten.

Deze pagina is met opzet leeg gelaten.

Beperkte licentieovereenkomst voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Door dit product te gebruiken, verklaart de koper of gebruiker zich akkoord met de volgende voorwaarden:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en mag alleen worden gebruikt met onderdelen die zich in het paneel bevinden. QIAGEN geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van dit paneel te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij het paneel zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en in aanvullende protocollen die beschikbaar zijn op www.qiagen.com. Enkele van deze aanvullende protocollen zijn door QIAGEN-gebruikers geleverd aan QIAGEN-gebruikers. Deze protocollen zijn niet grondig door QIAGEN getest of geoptimaliseerd. QIAGEN garandeert deze protocollen niet en garandeert evenmin dat ze geen rechten van derden schenden.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert QIAGEN niet dat dit paneel en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Dit paneel en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknapt of doorverkocht.
4. QIAGEN verwerpt uitdrukkelijk alle andere licenties, expliciet of impliciet, dan die uitdrukkelijk zijn vermeld.
5. De koper en gebruiker van het paneel gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen en niemand anders toestaan stappen te ondernemen die tot bovenstaande verboden handelingen kunnen leiden of deze vergemakkelijken. QIAGEN mag de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten, inclusief advocaatkosten, verhalen bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht in verband met het paneel en/of de onderdelen ervan af te dwingen.

Kijk op www.qiagen.com voor actuele licentievoorwaarden.

Handelsmerken: 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®, A/ISe®™, BigDye®, Dynal® (Thermo Fisher Scientific of diens dochterondernemingen). Geregistreerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, moeten altijd als wettelijk beschermd worden beschouwd, zelfs als ze niet specifiek als zodanig zijn aangegeven.

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

Bestellen www.qiagen.com/shop | Technische ondersteuning support.qiagen.com |
Website www.qiagen.com