

Gennaio 2021

Istruzioni per l'uso (manuale) del QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit



Versione 2



Per uso diagnostico in vitro



61104



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



1122788IT



Sommario

Uso previsto	5
Descrizione e principio	6
Lisi delle cellule di sangue	6
Legame del DNA genomico alla membrana della colonna spin QIAamp Mini	6
Purificazione automatizzata su QIAcube/QIAcube Connect MDx	7
Sommario e spiegazioni	10
Materiali in dotazione	11
Contenuto del kit	11
Materiali necessari ma non in dotazione	12
Avvertenze e precauzioni	14
Informazioni sulla sicurezza	14
Conservazione e manipolazione dei reagenti	16
Conservazione e manipolazione dei campioni	16
Rimozione dei residui contaminanti	17
Eluizione di DNA genomico puro	17
Note importanti	18
Punti importanti prima di iniziare un protocollo	18
Preparazione di reagenti e tamponi	19
Manipolazione delle colonne spin QIAamp Mini	20
Eluizione del DNA genomico	21
Resa e qualità del DNA genomico	21
Impostazione dell'apparato da vuoto QIAvac 24 Plus	21

Procedura	24
Protocollo: isolamento e purificazione di DNA genomico da campioni di sangue mediante utilizzo di un apparato da vuoto	24
Protocollo: isolamento e purificazione di DNA genomico da campioni di sangue mediante utilizzo di una microcentrifuga o di QIAcube/QIAcube Connect MDx.....	28
Controllo qualità.....	32
Limitazioni	32
Caratteristiche delle prestazioni.....	33
Simboli.....	38
Informazioni per gli ordini	40
Cronologia delle revisioni del documento	42

Uso previsto

Il QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit è un sistema che utilizza la tecnologia su membrana di silice (tecnologia QIAamp) per l'isolamento e la purificazione del DNA genomico da campioni biologici.

Questo prodotto è destinato all'uso da parte di utenti professionisti, quali tecnici e medici esperti nelle tecniche di biologia molecolare.

Il QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit è destinato alla diagnostica in vitro.

Descrizione e principio

Ogni procedura del QIAamp DSP DNA Blood Mini comprende 4 fasi:

- Lisi delle cellule nel campione di sangue
- Legame del DNA genomico presente nel lisato cellulare alla membrana di una colonna spin QIAamp Mini
- Lavaggio della membrana
- Eluizione del DNA genomico dalla membrana

Questo manuale comprende i protocolli relativi a due procedure alternative del QIAamp DSP DNA Blood Mini: la procedura di centrifugazione, che richiede una centrifuga, e quella sottovuoto, per la quale occorrono una centrifuga e un apparato da vuoto (consultare il diagramma di flusso, pag. 9). La procedura di centrifugazione può essere automatizzata su QIAcube e QIAcube Connect MDx.

Lisi delle cellule di sangue

I campioni vengono lisati in condizioni denaturanti a temperature elevate. La lisi viene eseguita in presenza della QIAGEN Protease (QP) e del tampone di lisi (AL).

Legame del DNA genomico alla membrana della colonna spin QIAamp Mini

Per ottimizzare il legame del DNA genomico alla membrana della colonna spin QIAamp Mini, si inizia aggiungendo etanolo ai lisati. Successivamente, si applica il lisato a una colonna spin QIAamp Mini e il DNA genomico viene assorbito sulla membrana di silice per effetto della pressione indotta dal vuoto o della forza centrifuga.

Purificazione automatizzata su QIAcube/QIAcube Connect MDx

QIAcube e QIAcube Connect MDx eseguono l'isolamento e la purificazione automatizzati degli acidi nucleici. Possono elaborare in continuo un massimo di 12 campioni a seduta.

Per la preparazione dei campioni con QIAcube e QIAcube Connect MDx, è necessario seguire le stesse fasi della procedura manuale (ossia, lisi, legame, lavaggio, eluizione) che permettono di continuare a usare il QIAamp DSP DNA Mini Kit per una purificazione del DNA di alta qualità.

Se viene eseguita l'automazione del QIAamp DSP DNA Blood Mini sugli strumenti QIAcube o QIAcube Connect MDx, questi ultimi consentono di processare non più di 50 campioni, a causa dei volumi morti, dell'evaporazione e dell'ulteriore consumo di reagenti da parte del pipettamento automatizzato. QIAGEN garantisce soltanto 50 preparazioni di campioni con l'uso manuale del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

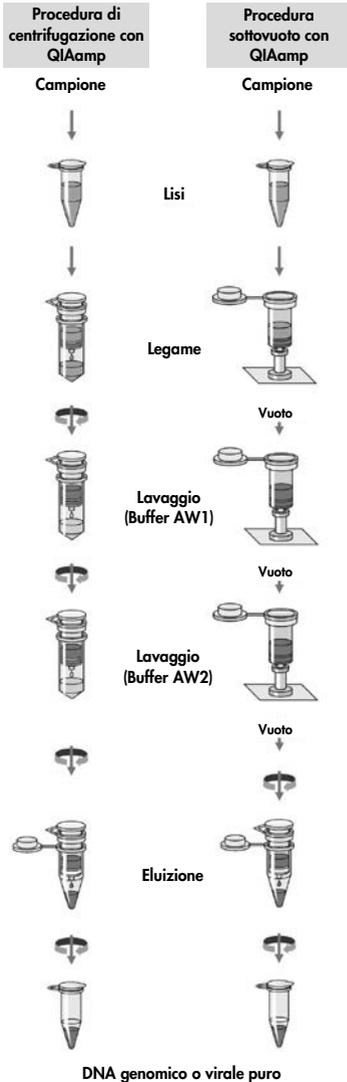


Figura 1. QIAcube.



Figura 2. QIAcube Connect MDx.

Procedure di centrifugazione e sottovuoto con il QIAamp DSP DNA Blood Mini



Prima di iniziare, leggere attentamente i protocolli (pagg. 24 e 28).

Nell'LT, aggiungere 20 µl di QP, 200 µl di campione e 200 µl di AL. Agitare su vortex per 15 secondi. Incubare per 10 minuti (± 1 min) a 56°C (± 1°C). Aggiungere 200 µl di etanolo. Agitare su vortex per 15 secondi.

Trasferire il lisato alla colonna spin QIAamp Mini.
Procedura di centrifugazione: Centrifugare per 1 minuto a 6000 x g.

Procedura sottovuoto: Applicare il vuoto.

Procedura di centrifugazione: posizionare la colonna spin QIAamp Mini in un nuovo WT, aggiungere 500 µl di AW1 e centrifugare per 1 minuto a 6000 x g.

Procedura sottovuoto: aggiungere 750 µl di AW1 e applicare il vuoto.

Procedura di centrifugazione: posizionare la colonna spin QIAamp Mini in un nuovo WT, aggiungere 500 µl di AW2 e centrifugare per 1 minuto alla velocità massima (circa 20.000 x g o 14.000 rpm).

Procedura sottovuoto: aggiungere 750 µl di AW2 e applicare il vuoto.

Posizionare la colonna spin QIAamp Mini nel WT.

Centrifugare per 3 minuti alla velocità massima (circa 20.000 x g o 14.000 rpm).

Posizionare la colonna spin QIAamp Mini nell'ET.

Aggiungere 50–200 µl di AE e incubare per 1 minuto.

Centrifugare per 1 minuto a 6000 x g.

Sommario e spiegazioni

Il QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit utilizza una tecnologia consolidata per offrire un metodo semplice e rapido per isolare e purificare il DNA genomico da 200 µl di sangue intero.

Le procedure del QIAamp DSP DNA Blood Mini concepite per processare simultaneamente più campioni di sangue forniscono DNA purificato, pronto per l'uso. Queste procedure possono essere utilizzate con sangue intero, appena prelevato o congelato, e sangue trattato con citrato o EDTA.

Le semplici procedure di centrifugazione e sottovuoto del QIAamp DSP sono indicate per processare simultaneamente più campioni. Alcune delle procedure di centrifugazione del QIAamp possono essere interamente automatizzate sul sistema QIAcube o QIAcube Connect MDx per garantire una migliore standardizzazione e una maggiore facilità d'uso (pag. 7).

Non è necessaria alcuna separazione preliminare dei leucociti. Le procedure non richiedono né l'estrazione con fenolo/cloroformio, né la precipitazione con alcool; inoltre, poiché occorre solo il minimo intervento da parte dell'operatore, garantiscono la gestione sicura dei campioni potenzialmente infetti. Tali procedure sono concepite per evitare la contaminazione crociata dei campioni. Il DNA purificato è pronto per essere utilizzato nella PCR e in altre applicazioni, o in alternativa può essere conservato a una temperatura compresa tra -25 e -15°C per l'uso successivo.

Materiali in dotazione

Contenuto del kit

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
Numero di catalogo			61104
Numero di preparazioni			50*
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (QIAamp Mini Spin Columns con provette di lavaggio) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Provette di eluizione) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors (Connettori per vuoto)		50
LT	Lysis Tubes (Provette di lisi) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Provette di lavaggio) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer [†] (Tampone di lisi)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 [†] (Tampone di lavaggio 1) (concentrato)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 [†] (Tampone di lavaggio 2) (concentrato)		13 ml
AE	Elution Buffer [†] (Tampone di eluizione)		25 ml
PS	Protease Solvent [‡] (Solvente della proteasi)		2 ml
QP	QIAGEN Protease [§]		1 fiala
-	Istruzioni per l'uso (manuale)		1

* Se viene eseguita l'automazione del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sul sistema QIAcube o QIAcube Connect MDx, quest'ultimo consente di processare non più di 50 campioni, a causa dei volumi morti, dell'evaporazione e dell'ulteriore consumo di reagenti da parte del pipettamento automatizzato. QIAGEN garantisce soltanto 50 preparazioni di campioni con l'uso manuale del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

[†] Contiene guanidina cloridrato. Non compatibile con disinfettanti contenenti candeggina. Per maggiori informazioni, vedere Informazioni sulla sicurezza a pagina 14.

[‡] Contiene azide di sodio come conservante.

[§] Volume di risospensione 1,2 ml. Vedere "Preparazione di reagenti e tamponi" a pagina 19.

Materiali necessari ma non in dotazione

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le schede di dati di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) disponibili presso il fornitore.

Per le procedure di centrifugazione e sottovuoto

- Etanolo (96–100%)
- Pipette* e relativi puntali (per evitare la contaminazione crociata, si raccomanda vivamente di utilizzare puntali con barriere anti-aerosol)
- Guanti monouso
- Blocco riscaldante* per la lisi dei campioni a 56°C (si raccomanda Eppendorf® Thermomixer® comfort con blocco riscaldante per microprovette da 1,5 ml†)
- Microcentrifuga*
- Cilindro graduato (50 ml)
- Agitatore Vortex

Solo per la procedura sottovuoto

- Apparato da vuoto QIAvac 24 Plus (n. cat. 19413) o altro equivalente
- VacConnectors (n. cat. 19407)
- VacValves (n. cat. 19408)
- QIAvac Connecting System (n. cat. 19419)
- Vacuum Pump (n. cat. 84020)
- Vacuum Regulator (n. cat. 19530)

* Per assicurarsi che i campioni vengano processati adeguatamente con le procedure del QIAamp DSP DNA Blood Mini, si raccomanda di calibrare gli strumenti (ad es., pipette e blocchi riscaldanti) secondo le indicazioni dei produttori.

† L'elenco non è esaustivo; non include infatti molti importanti fornitori di materiali biologici.

Solo per la procedura automatizzata

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

Avvertenze e precauzioni

Tenere presente che potrebbe essere richiesto di segnalare al produttore e all'autorità di regolamentazione del paese dell'utente e/o del paziente gravi incidenti verificatisi in relazione al dispositivo.

Informazioni sulla sicurezza

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS) appropriate. Le schede sono disponibili online nel pratico formato PDF sul sito www.qiagen.com/safety, dove è possibile cercare, visualizzare e stampare la scheda SDS di ogni kit e di ogni componente del kit QIAGEN.



CAUTELA: NON aggiungere candeggina o soluzioni acide direttamente alle sostanze di scarto della preparazione dei campioni.

Il tampone di lisi (AL) e il tampone di lavaggio 1 (AW1) contengono guanidina cloridrato, che può formare composti altamente reattivi in combinazione con la candeggina. Se si rovescia il liquido di questi tamponi, pulire con acqua e detergente da laboratorio idoneo. Se il liquido rovesciato contiene agenti potenzialmente infetti, pulire l'area interessata, prima con acqua e detergente da laboratorio, e successivamente con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% (v/v). Se i flaconi di tampone sono danneggiati o si riscontrano perdite, indossare guanti e occhiali di protezione al momento del loro smaltimento, onde evitare lesioni personali a sé o ad altri.

QIAGEN non ha testato i liquidi di scarico generati dalle procedure QIAamp DSP DNA Blood Mini per la presenza di materiali infetti residui. La contaminazione dei liquidi di scarico da parte di materiali infetti residui è improbabile, ma non può essere esclusa completamente. Pertanto, i liquidi di scarico devono essere considerati infetti e smaltiti in conformità alle normative di sicurezza locali.

Ai componenti del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sono associate frasi di rischio e consigli di prudenza:

Tampone di lisi (AL) e tampone di lavaggio 1 (AW1)



Contiene guanidina cloridrato. Avvertenza! Nocivo se ingerito o inalato. Causa irritazione cutanea. Causa grave irritazione agli occhi. Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso.

QIAGEN Protease (QP)



Contiene: subtilisina. Pericolo! Nocivo se ingerito. Causa irritazione cutanea. Causa grave danno oculare. Se inalato, può causare sintomi di asma e allergia o difficoltà respiratorie. Può essere irritante per le vie respiratorie.



Evitare di respirare le polveri/i fumi/i gas/il prodotto nebulizzato/i vapori/gli aerosol. Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso. Indossare una protezione per la respirazione.



IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. IN CASO di esposizione o di possibile esposizione: Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Portare la vittima all'aria aperta e mantenerla tranquilla in posizione confortevole per la respirazione.

Conservazione e manipolazione dei reagenti

Le colonne spin QIAamp Mini devono essere conservate a 2–8°C al momento della consegna e possono essere utilizzate fino alla data di scadenza indicata sulla scatola del kit.

Tutti i tamponi possono essere conservati a temperatura ambiente (15–25°C) fino alla data di scadenza indicata sulla scatola del kit.

La QIAGEN Protease (QP) liofilizzata può essere conservata a temperatura ambiente (15–25°C) fino alla data di scadenza senza alcuna perdita di prestazioni. La QIAGEN Protease ricostituita è stabile fino a un anno se conservata a 2–8°C, ma solo fino alla data di scadenza.

Il tampone di lavaggio 1 (AW1) ricostituito e il tampone di lavaggio 2 (AW2) ricostituito sono stabili fino a un anno se conservati a temperatura ambiente (15–25°C), ma solo fino alla data di scadenza.

Conservazione e manipolazione dei campioni

I crioprecipitati che si formano durante lo scongelamento di campioni congelati ostruiscono la membrana della colonna spin QIAamp Mini. Se sono visibili dei crioprecipitati, non aspirarli durante l'aspirazione del campione. Sono stati determinati gli effetti del congelamento e dello scongelamento dei campioni di sangue sulla purificazione del DNA eseguita mediante l'utilizzo del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (vedere Figura 3).

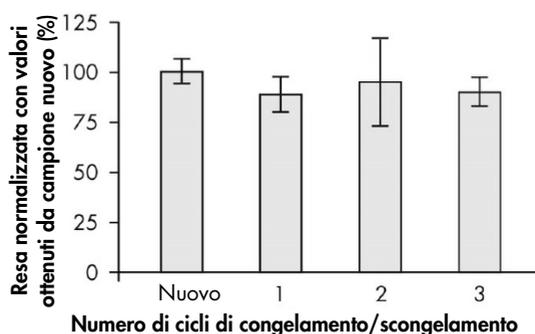


Figura 3. Effetti del congelamento e dello scongelamento dei campioni di sangue. Il sangue trattato con EDTA è stato congelato e scongelato fino a 3 volte, quindi sottoposto a purificazione del DNA mediante l'utilizzo del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Le rese del DNA calcolate sono normalizzate sulla resa del campione nuovo (100%). Ciascuna barra del grafico rappresenta i risultati ottenuti utilizzando 32 repliche (media \pm deviazione standard).

La quantità di DNA purificato fornita dalle procedure del QIAamp DSP DNA Blood Mini dipende dal contenuto leucocitario di ciascun campione di sangue. Utilizzando la procedura di centrifugazione o sottovuoto, il DNA genomico è purificato da 200 µl di sangue di donatori sani. È possibile utilizzare provette primarie e anticoagulanti diversi per il prelievo dei campioni di sangue per le procedure del QIAamp DSP DNA Blood Mini (Tabella 1).

Tabella 1. Rese medie relative di DNA ottenute da campioni di sangue raccolti utilizzando provette primarie e anticoagulanti diversi

Provetta primaria	Produttore	N. cat.	Volume nominale	Resa media*
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

Il DNA genomico è stato purificato da 200 µl di campioni di sangue di donatori sani (da 4,0 a 9,0 × 10⁶ cellule/ml).

* Per ciascuna provetta primaria, la resa media è determinata utilizzando 11 campioni in triplicato.

Rimozione dei residui contaminanti

Mentre il DNA genomico rimane legato alla membrana della QIAamp Mini Spin Column, i contaminanti vengono rimossi efficacemente dal lavaggio eseguito prima con il tampone di lavaggio 1 (AW1) e successivamente con il tampone di lavaggio 2 (AW2).

Eluizione di DNA genomico puro

Il DNA genomico viene eluito dalla membrana della QIAamp Mini Spin Column utilizzando 50-200 µl di tampone di eluizione (AE). Il DNA eluito può essere utilizzato in numerose esami downstream, compresi diversi tipi di esami diagnostici downstream in vitro.

Note importanti

Punti importanti prima di iniziare un protocollo

- Dopo la ricezione, verificare che i componenti del kit non siano danneggiati. Se le confezioni blister o i flaconi di tampone appaiono danneggiati, rivolgersi ai servizi tecnici QIAGEN o al distributore locale. In caso di fuoriuscita di liquidi, fare riferimento a “Informazioni sulla sicurezza” (pag. 14). Non utilizzare componenti del kit danneggiati, poiché potrebbero limitare il rendimento del kit.
- Fra un trasferimento di liquido e l'altro, sostituire sempre i puntali delle pipette. Per limitare al minimo il rischio di contaminazione crociata, si consiglia di utilizzare puntali per pipetta con barriera aerosol anticontaminazione.
- Tutte le fasi di centrifugazione hanno luogo a temperatura ambiente (15–25°C).
- Utilizzare sempre guanti monouso e controllare regolarmente che non siano contaminati. Se i guanti risultano contaminati, eliminarli.
- Per limitare al minimo il rischio di contaminazione crociata, aprire soltanto una provetta per volta.
- Non utilizzare contemporaneamente componenti di più kit per la stessa procedura, a meno che i numeri di lotto non siano identici.
- Evitare la contaminazione microbica dei reagenti del kit.
- Per ridurre al minimo il rischio di infezione dovuto a materiale potenzialmente infetto, si raccomanda di operare in condizioni di flusso d'aria laminare finché non ha avuto luogo la lisi dei campioni.
- Il kit deve essere utilizzato esclusivamente da personale esperto nelle pratiche di laboratorio per la diagnostica in vitro.

Preparazione di reagenti e tamponi

- Preparazione della QIAGEN Protease

Aggiungere 1,2 ml di solvente della proteasi (PS) nella fiala di QIAGEN Protease (QP) liofilizzata e miscelare con cura. Per evitare la formazione di schiuma, miscelare capovolgendo la fiala diverse volte. Assicurarsi che la QIAGEN Protease (QP) sia completamente disciolta.

Importante: Non aggiungere QIAGEN Protease (QP) direttamente al tampone di lisi (AL).

- Preparazione del tampone di lavaggio 1

Utilizzando un cilindro graduato, aggiungere 25 ml di etanolo (96-100%) nel flacone contenente 19 ml di tampone di lavaggio 1 (AW1) concentrato. Conservare il tampone di lavaggio 1 (AW1) ricostituito a temperatura ambiente (15–25°C).

Importante: Miscelare sempre il tampone di lavaggio 1 (AW1) ricostituito, capovolgendo il flacone più volte prima di iniziare la procedura.

- Preparazione del tampone di lavaggio 2

Utilizzando un cilindro graduato, aggiungere 30 ml di etanolo (96–100%) nel flacone contenente 13 ml di tampone di lavaggio 2 (AW2) concentrato. Conservare il tampone di lavaggio 2 (AW2) ricostituito a temperatura ambiente (15–25°C).

Importante: Miscelare sempre il tampone di lavaggio 2 (AW2) ricostituito, capovolgendo il flacone più volte prima di iniziare la procedura.

- Preparazione del tampone di eluizione

Il kit contiene un flacone di tampone di eluizione (AE). Per evitare la contaminazione del tampone di eluizione (AE), durante il prelievo del tampone di eluizione (AE) dal flacone si raccomanda di utilizzare puntali per pipetta dotati di barriere anti-aerosol e di chiudere il tappo del flacone immediatamente dopo l'utilizzo.

Importante: Il tampone di eluizione (AE) contiene azide di sodio, un conservante con assorbanza a 260 nm. Pertanto, se si quantifica il DNA nell'eluato tramite la misurazione dell'assorbanza a 260 nm o si determina il grado di purezza del DNA nell'eluato tramite misurazioni dell'assorbanza a 260 e a 280 nm o si esegue la scansione dell'assorbanza nel range tra 220 e 350 nm, assicurarsi che il bianco contenga la stessa concentrazione di azide di sodio dell'eluato. Ad esempio, se si prepara l'eluato per le misurazioni dell'assorbanza diluendo 50 µl di eluito con 100 µl di acqua, occorre preparare il bianco diluendo 50 µl di tampone di eluizione (AE) con 100 µl di acqua. Per le diluizioni, usare acqua distillata appena preparata.

Manipolazione delle colonne spin QIAamp Mini

A causa della sensibilità delle tecnologie di amplificazione degli acidi nucleici, osservare le seguenti precauzioni per la manipolazione delle colonne spin QIAamp Mini per evitare la contaminazione crociata tra le preparazioni dei campioni:

- Applicare con cura il campione o la soluzione alla colonna spin QIAamp Mini. Pipettare il campione nella colonna spin QIAamp Mini senza bagnare il bordo della colonna.
- Fra un trasferimento di liquido e l'altro, sostituire sempre i puntali delle pipette. Si raccomanda di utilizzare puntali per pipetta con barriera aerosol anticontaminazione.
- Evitare di toccare la membrana della colonna spin QIAamp Mini con il puntale per pipetta.
- Dopo tutte le fasi di centrifugazione con vortex a pulsazione, centrifugare brevemente le provette per microcentrifuga per eliminare le gocce dall'interno dei tappi.
- Aprire una sola colonna spin QIAamp Mini per volta, facendo attenzione a non generare aerosol.
- Indossare i guanti per tutta la durata della procedura. In caso di contatto fra guanti e campione, sostituire immediatamente i guanti.

Eluizione del DNA genomico

Il volume di DNA eluito da una colonna spin QIAamp Mini può risultare fino a 20 µl inferiore al volume del tampone di eluizione (AE) applicato alla colonna. Il volume dell'eluito ottenuto dipende dalla natura del campione. Lasciare equilibrare il tampone di eluizione (AE) a temperatura ambiente (15–25°C) prima di applicarlo alla colonna. Il DNA eluito viene raccolto in provette di eluizione (ET). Se il DNA viene conservato per un periodo inferiore alle 4 settimane, si raccomanda la sua conservazione a 2–8°C. Per la conservazione a lungo termine, si raccomanda una temperatura compresa tra -30 e -15°C.

Resa e qualità del DNA genomico

La resa e la qualità del DNA genomico isolato sono adeguate per molte procedure di determinazione utilizzate in diagnostica molecolare. Eseguire i test diagnostici attenendosi alle istruzioni dei produttori.

Impostazione dell'apparato da vuoto QIAvac 24 Plus

Assicurarsi di impostare correttamente la colonna spin QIAamp Mini, il VacConnector (VC) e la VacValve (vedere Figura 4).

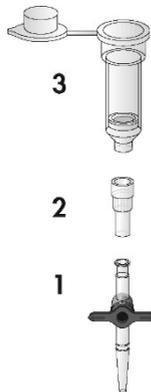


Figura 4. Montaggio dei componenti del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit per l'estrazione sottovuoto dei campioni.
(1) VacValve (2) VacConnector (VC) (3) Colonna spin QIAamp Mini

Se si utilizza la procedura sottovuoto con l'apparato da vuoto QIAvac 24 Plus, si raccomanda di etichettare le provette di lisi (LT), le provette di eluizione (ET) e le colonne spin QIAamp Mini secondo lo schema in Figura 5 (vedere pagina seguente), in modo da non confondere i campioni. Per praticità, è possibile fotocopiare la figura e apporvi le etichette dei nomi dei campioni. Si raccomanda di ricorrere a uno schema analogo se si impiegano altri apparati da vuoto o se si utilizza la procedura di centrifugazione.

Data: _____

Operatore: _____

ID esecuzione: _____

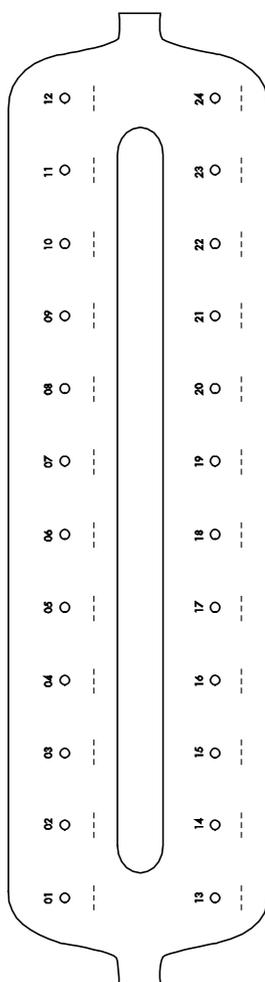


Figura 5. Schema di etichettatura per provette di lisi (LT), provette di eluizione (ET) e colonne spin QIAamp Mini da utilizzare nell'apparato da vuoto QIAvac 24 Plus.

Procedura

Protocollo: isolamento e purificazione di DNA genomico da campioni di sangue mediante utilizzo di un apparato da vuoto

Per isolare e purificare DNA genomico da campioni di 200 µl di sangue intero trattati con EDTA o citrato utilizzando un apparato da vuoto come QIAvac 24 Plus.

Punti importanti prima di iniziare

La seguente procedura fornisce istruzioni per elaborare un singolo campione di sangue. Tuttavia, l'apparato da vuoto QIAvac 24 Plus permette di elaborare simultaneamente fino a 24 campioni.

Ulteriori accorgimenti prima di iniziare

- Lasciar equilibrare i campioni di sangue a temperatura ambiente e assicurarsi che siano adeguatamente miscelati.
- Se si è formato un precipitato nel tampone di lisi (AL), scioglierlo con un'incubazione a 56°C.
- Assicurarsi che il tampone di lavaggio 1 (AW1), il tampone di lavaggio 2 (AW2) e la QIAGEN Protease (QP) siano stati preparati secondo le istruzioni fornite nella sezione "Preparazione di reagenti e tamponi" a pagina 19.
- Lasciar equilibrare il tampone di eluizione (AE) a temperatura ambiente per utilizzarlo nel passaggio 14.
- Impostare un blocco riscaldante a 56°C per prepararlo all'uso nel passaggio 4.
- Per limitare al minimo la contaminazione crociata, inserire un VacConnector (VC) in ciascun adattatore luer dell'apparato da vuoto.
- Le procedure di controllo qualità di QIAGEN comprendono l'esecuzione di test funzionali sul rilascio dei kit condotti sui singoli lotti di kit. Pertanto, non miscelare reagenti appartenenti a lotti di kit diversi e non unire singoli reagenti provenienti da lotti di reagenti diversi.
- Assicurarsi che nell'apparato da vuoto il flacone di scarico sia vuoto e che tutti i raccordi siano collegati correttamente.
- Per ulteriori informazioni sul funzionamento dell'apparato da vuoto, in particolare sulla manutenzione, consultare il manuale fornito in dotazione con tale attrezzatura.

Procedura

1. Pipettare 20 µl di QIAGEN Protease (QP) in una provetta di lisi (LT).

Nota: prima dell'uso, controllare la data di scadenza della proteasi ricostituita.

2. Aggiungere 200 µl di campione di sangue alla provetta di lisi (LT).
3. Aggiungere 200 µl di tampone di lisi (AL) alla provetta di lisi (LT), chiudere il tappo della provetta e miscelare il campione mediante utilizzo di un vortex a pulsazione per 15 secondi. Per assicurare una lisi efficace, è essenziale miscelare con cura il campione e il tampone di lisi (AL), in modo da ottenere una soluzione omogenea.

Nota: poiché il tampone di lisi (AL) presenta un'elevata viscosità, assicurarsi di aggiungere il volume appropriato di tampone di lisi (AL) pipettando accuratamente o utilizzando una pipetta adeguata.

Nota: Non aggiungere la QIAGEN Protease (QP) direttamente al tampone di lisi (AL).

4. Incubare a 56°C (±1°C) per 10 min (±1 min).
5. Centrifugare la provetta di lisi (LT) per ≥5 s alla velocità massima per rimuovere le gocce all'interno del tappo.
6. Aggiungere 200 µl di etanolo (96–100%) alla provetta di lisi (LT), chiudere il tappo della provetta e miscelare il campione mediante utilizzo di un vortex a pulsazione per ≥15 s.
7. Centrifugare la provetta di lisi (LT) per ≥5 s alla velocità massima per rimuovere le gocce all'interno del tappo.
8. Inserire la colonna spin QIAamp Mini nel VacConnector (VC) sull'apparato da vuoto. Accertarsi che la valvola da vuoto principale (tra l'apparato da vuoto e il relativo collettore) e la valvola con tappo a vite (sul collettore da vuoto) siano chiuse. Azionare la pompa da vuoto.

Eliminare la provetta di lavaggio (WT) (2 ml) in cui viene collocata la colonna spin QIAamp Mini nel blister.

Il vuoto viene applicato soltanto al sistema di connessione (se utilizzato), anziché al collettore da vuoto.

9. Applicare con cura l'intero lisato del passaggio 7 alla colonna spin QIAamp Mini, senza bagnarne il bordo. Evitare di toccare la membrana della colonna spin QIAamp Mini con il puntale per pipetta.

Nota: se si elaborano vari campioni, aprire solo una provetta di lisi (LT) per volta.

10. Aprire la valvola da vuoto principale. Dopo avere estratto il lisato attraverso la colonna spin QIAamp Mini, chiudere la valvola da vuoto principale e aprire la valvola con tappo a vite sul collettore da vuoto per eseguire lo sfiato del collettore. Chiudere la valvola con tappo a vite dopo il rilascio del vuoto dal collettore.

Dopo avere chiuso la valvola da vuoto principale, il vuoto viene applicato soltanto al sistema di connessione (se utilizzato), anziché al collettore da vuoto.

Nota: utilizzare la valvola con tappo a vite del collettore da vuoto per un rilascio rapido del vuoto.

Nota: se si utilizzano più colonne spin QIAamp Mini simultaneamente, si consiglia di chiudere la VacValve di ogni colonna dopo il passaggio del lisato, in modo da limitare la durata di questa fase.

Nota: se dopo 10 min il lisato non è ancora passato attraverso la membrana, posizionare la colonna spin QIAamp Mini in una provetta di lavaggio (WT) pulita, chiudere il tappo della provetta e centrifugare a circa $6000 \times g$ (8000 rpm) per 3 min o finché il lisato non ha attraversato completamente la membrana. Posizionare la colonna spin QIAamp Mini in un'altra provetta di lavaggio (WT) pulita e continuare con il passaggio 10 del protocollo a pag. 30.

Nota: se il lisato continua a non passare attraverso la membrana durante la centrifugazione, eliminare il campione e ripetere l'isolamento e la purificazione con nuovi campioni iniziando dal passaggio 1 a pag. 29.

11. Applicare 750 μ l di tampone di lavaggio 1 (AW1) alla colonna spin QIAamp Mini, senza bagnarne il bordo. Evitare di toccare la membrana della colonna spin QIAamp Mini con il puntale per pipetta. Lasciare aperto il tappo della colonna e aprire la valvola da vuoto principale. Dopo avere estratto il tampone di lavaggio 1 (AW1) attraverso la colonna spin QIAamp Mini, chiudere la valvola da vuoto principale e aprire la valvola con tappo a vite per eseguire lo sfiato del collettore. Chiudere la valvola con tappo a vite dopo il rilascio del vuoto dal collettore.

12. Applicare 750 µl di tampone di lavaggio 2 (AW2) alla colonna spin QIAamp Mini, senza bagnare il bordo. Evitare di toccare la membrana della colonna spin QIAamp Mini con il puntale per pipetta. Lasciare aperto il tappo della colonna e aprire la valvola da vuoto principale. Dopo avere estratto il tampone di lavaggio 2 (AW2) attraverso la colonna spin QIAamp Mini, chiudere la valvola da vuoto principale e aprire la valvola con tappo a vite per eseguire lo sfiato del collettore. Chiudere la valvola con tappo a vite dopo il rilascio del vuoto dal collettore.

13. Chiudere il tappo della colonna spin QIAamp Mini, rimuoverla dall'apparato da vuoto ed eliminare il VacConnector (VC). Posizionare la colonna spin QIAamp Mini in una provetta di lavaggio (WT) pulita e centrifugare alla velocità massima (circa a 20.000 x g o 14.000 rpm) per 3 min, in modo da asciugare la membrana completamente.

Nota: se la membrana non viene asciugata per centrifugazione, potrebbe risultare impossibile eseguire l'esame downstream.

14. Posizionare la colonna spin QIAamp Mini in una provetta di eluizione (ET) pulita ed eliminare la provetta di lavaggio (WT) contenente il filtrato. Aprire con cura il tappo della colonna spin QIAamp Mini e applicare da 50 a 200 µl di tampone di eluizione (AE) al centro della membrana. Chiudere il tappo della provetta e incubare a temperatura ambiente per 1 min. Centrifugare a 6000 x g (8000 rpm) per 1 min, in modo da eluire il DNA.

Nota: dopo l'esecuzione del protocollo, attenersi alla procedura di manutenzione dell'apparato da vuoto (per ulteriori informazioni, consultare il manuale in dotazione con tale attrezzatura).

Protocollo: isolamento e purificazione di DNA genomico da campioni di sangue mediante utilizzo di una microcentrifuga o di QIAcube/QIAcube Connect MDx

Per isolare e purificare DNA genomico da campioni di 200 µl di sangue intero trattati con EDTA o citrato utilizzando una microcentrifuga oppure su QIAcube o QIAcube Connect MDx in modo automatico.

Punti importanti prima di iniziare

- La seguente procedura fornisce istruzioni per elaborare un singolo campione di sangue. È tuttavia possibile elaborare vari campioni simultaneamente; il numero dipende dalla capacità della microcentrifuga impiegata.
- L'elaborazione automatica di 2–10 o 12 campioni si può eseguire su strumenti QIAcube o QIAcube Connect MDx.
- Per l'automazione, seguire le istruzioni delle schede del protocollo (QIAcube) o sulla schermata del software (QIAcube Connect MDx) e il *Manuale utente di QIAcube o QIAcube Connect MDx*.

Ulteriori accorgimenti prima di iniziare

- Lasciar equilibrare i campioni di sangue a temperatura ambiente e assicurarsi che siano adeguatamente miscelati.
- Se si è formato un precipitato nel tampone di lisi (AL), scioglierlo con un'incubazione a 56°C.
- Assicurarsi che il tampone di lavaggio 1 (AW1), il tampone di lavaggio 2 (AW2) e la QIAGEN Protease (QP) siano stati preparati secondo le istruzioni fornite nella sezione "Preparazione di reagenti e tamponi" a pagina 19.
- Lasciar equilibrare il tampone di eluizione (AE) a temperatura ambiente per utilizzarlo nel passaggio 15.
- Impostare un blocco riscaldante a 56°C per prepararlo all'uso nel passaggio 4.
- Le procedure di controllo qualità di QIAGEN comprendono l'esecuzione di test funzionali sul rilascio dei kit condotti sui singoli lotti di kit. Pertanto, non miscelare reagenti appartenenti a lotti di kit diversi e non unire singoli reagenti provenienti da lotti di reagenti diversi.

Procedura

- Per la procedura manuale con una microcentrifuga attenersi ai passaggi 1–15 di seguito.
 - Questa procedura può essere automatizzata in 3 diverse versioni:
 - Volume di eluizione: 100 µl automazione completa con 100 µl di volume di eluizione (a partire dal passaggio 1)
 - Volume di eluizione: 200 µl automazione completa con 200 µl di volume di eluizione (a partire dal passaggio 1)
 - Lisi manuale: parzialmente automatizzata con lisi off-board manuale (a partire da dopo il passaggio 5)
1. Pipettare 20 µl di QIAGEN Protease (QP) in una provetta di lisi (LT).

Nota: prima dell'uso, controllare la data di scadenza della proteasi ricostituita.
 2. Aggiungere 200 µl di campione di sangue alla provetta di lisi (LT).
 3. Aggiungere 200 µl di tampone di lisi (AL) alla provetta di lisi (LT), chiudere il tappo della provetta e miscelare il campione mediante utilizzo di un vortex a pulsazione per 15 secondi. Per assicurare una lisi efficace, è essenziale miscelare con cura il campione e il tampone di lisi (AL), in modo da ottenere una soluzione omogenea.

Nota: poiché il tampone di lisi (AL) presenta un'elevata viscosità, assicurarsi di aggiungere il volume appropriato di tampone di lisi (AL) pipettando accuratamente o utilizzando una pipetta adeguata.

Nota: Non aggiungere la QIAGEN Protease (QP) direttamente al tampone di lisi (AL).
 4. Incubare a 56°C (±1°C) per 10 min (±1 min).
 5. Centrifugare la provetta di lisi (LT) per ≥5 s alla velocità massima per rimuovere le gocce all'interno del tappo.

Nota: se la lisi manuale (passaggi 1–5) è stata effettuata off-board, è possibile automatizzare i seguenti passaggi (6–15) su QIAcube o QIAcube Connect MDx utilizzando il protocollo per la lisi manuale.
 6. Aggiungere 200 µl di etanolo (96–100%) alla provetta di lisi (LT), chiudere il tappo della provetta e miscelare il campione mediante utilizzo di un vortex a pulsazione per ≥15 s.

7. Centrifugare la provetta di lisi (LT) per ≥ 5 s alla velocità massima per rimuovere le gocce all'interno del tappo.
8. Applicare con cura l'intero lisato del passaggio 7 alla colonna spin QIAamp Mini, senza bagnarne il bordo. Evitare di toccare la membrana della colonna spin QIAamp Mini con il puntale per pipetta.
Nota: se si elaborano vari campioni, aprire solo una provetta di lisi (LT) per volta.
9. Chiudere il tappo della colonna spin QIAamp Mini e centrifugare a circa $6000 \times g$ per 1 min. Posizionare la colonna spin QIAamp Mini in una provetta di lavaggio (WT) pulita, quindi eliminare la provetta contenente il filtrato.
Nota: se il lisato non è passato completamente attraverso la membrana dopo la centrifugazione a $6.000 \times g$ (8.000 rpm), centrifugare di nuovo alla velocità massima (fino a $20.800 \times g$) per 1 minuto.
Nota: se il lisato continua a non passare attraverso la membrana durante la centrifugazione, eliminare il campione e ripetere l'isolamento e la purificazione con nuovi campioni iniziando dal passaggio 1 a pag. 29.
10. Aprire con cura la colonna spin QIAamp Mini e aggiungere $500 \mu\text{l}$ di tampone di lavaggio 1 (AW1), senza bagnarne il bordo. Evitare di toccare la membrana della colonna spin QIAamp Mini con il puntale per pipetta.
11. Chiudere il tappo della colonna spin QIAamp Mini e centrifugare a circa $6000 \times g$ per 1 min. Posizionare la colonna spin QIAamp Mini in una provetta di lavaggio (WT) pulita, quindi eliminare la provetta contenente il filtrato.
12. Aprire con cura la colonna spin QIAamp Mini e aggiungere $500 \mu\text{l}$ di tampone di lavaggio 2 (AW2), senza bagnarne il bordo. Evitare di toccare la membrana della colonna spin QIAamp Mini con il puntale per pipetta.
13. Chiudere il tappo della colonna spin QIAamp Mini e centrifugare alla velocità massima (circa $20.000 \times g$ o 14.000 rpm) per 1 min. Posizionare la colonna spin QIAamp Mini in una provetta di lavaggio (WT) pulita, quindi eliminare la provetta contenente il filtrato.

14. Centrifugare alla velocità massima (circa 20.000 x g o 14.000 rpm) per 3 min, in modo da asciugare la membrana completamente.

Nota: se la membrana non viene asciugata per centrifugazione, potrebbe risultare impossibile eseguire l'esame downstream.

15. Posizionare la colonna spin QIAamp Mini in una provetta di eluizione (ET) pulita ed eliminare la provetta di lavaggio (WT) contenente il filtrato. Aprire con cura il tappo della colonna spin QIAamp Mini e applicare da 50 a 200 µl di tampone di eluizione (AE) al centro della membrana. Chiudere il tappo della provetta e incubare a temperatura ambiente per 1 min. Centrifugare a circa 6000 x g (8000 rpm) per 1 min, in modo da eluire il DNA.

Nota importante: nel caso in cui tutte le procedure siano automatizzate, rimuovere gli eluiti dallo strumento direttamente dopo la fine del ciclo e conservarli correttamente.

Controllo qualità

In conformità al Sistema di gestione della qualità certificato da ISO di QIAGEN, ogni lotto di QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit viene testato rispetto a specifiche prestabilite, per garantire la costante qualità del prodotto.

Limitazioni

Le prestazioni del sistema sono state determinate mediante l'uso di sangue intero per l'isolamento del DNA genomico.

È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni del sistema per qualunque procedura utilizzata in laboratorio che non sia stata già oggetto di uno studio di valutazione delle prestazioni da parte di QIAGEN.

Per minimizzare il rischio di un impatto negativo sui risultati diagnostici, è necessario ricorrere ad adeguati controlli delle applicazioni a valle. Per un'ulteriore convalida, si consiglia di attenersi alle linee guida della Conferenza Internazionale sull'Armonizzazione dei Requisiti Tecnici (ICH) riportate in ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology (Convalida dei metodi analitici: testo e metodologia).

Eventuali risultati diagnostici generati dal sistema devono essere interpretati in combinazione con gli esiti di altri esami clinici o di laboratorio.

Caratteristiche delle prestazioni

Resa del DNA purificato

Il range lineare della resa di DNA ottenuta grazie alla procedura sottovuoto del QIAamp DSP DNA Blood Mini è stato determinato con sangue fornito da donatori sani con una conta leucocitaria di $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ cellule/ml (vedere Figura 6).

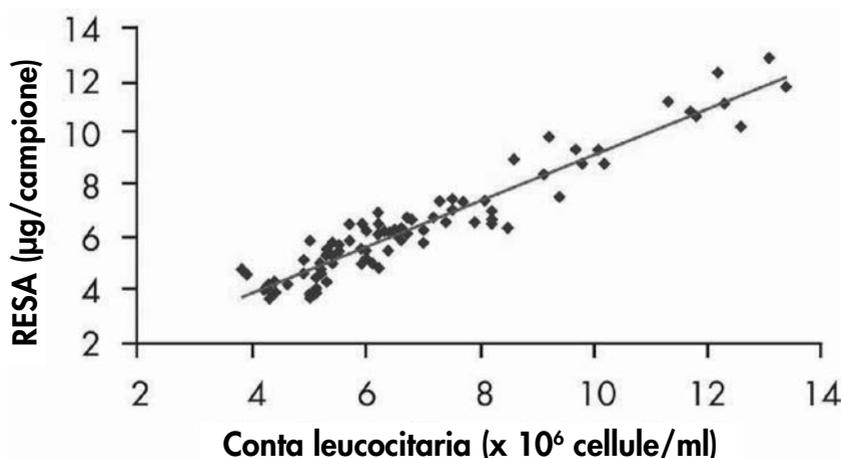


Figura 6. Range lineare della resa di DNA utilizzando la procedura sottovuoto del QIAamp DSP DNA Blood Mini con un volume di eluizione di 200 µl. Sono state determinate le conte leucocitarie di donatori sani ed è stato stabilito il range di $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ cellule/ml. Il DNA è stato purificato da campioni di sangue utilizzando la procedura sottovuoto del QIAamp DSP DNA Blood Mini con un volume di eluizione di 200 µl. Sono stati processati 87 campioni in triplicato.

Prestazioni in esami downstream

Il DNA genomico eluito è pronto per essere utilizzato in diversi esami downstream, inclusa una varietà di esami diagnostici downstream in vitro (da Tabella 2 a Tabella 6). Sono stati determinati gli effetti del volume di eluizione e del volume di eluito sulle prestazioni della PCR (vedere Tabella 7).

Tabella 2. Tipizzazione HLA mediante utilizzo degli esami Dynal® AllSet™ SSP HLA-A “bassa risoluzione”, HLA-B “bassa risoluzione”, DR “bassa risoluzione” e DQ “bassa risoluzione”

HLA loco A		HLA loco B		HLA loco DR		HLA loco DQ	
Genotipo	N.	Genotipo	N.	Genotipo	N.	Genotipo	N.
A2/A3	2	B51, B51/ B13 o B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 o DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 o 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	Altro	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Altro	0			DR15	1	Altro	0
				DR1/DR7	1		
				Altro	0		

Il sangue intero è stato prelevato da singoli donatori e il DNA genomico è stato purificato da 200 µl di sangue intero mediante l’uso del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Utilizzando gli esami Dynal AllSet[®] SSP (Thermo Fisher Scientific o sue controllate), sono stati identificati gli alleli nei loci indicati nel numero di soggetti stabilito. N.: numero di soggetti.

Tabella 3. Genotipizzazione del fattore V (FV) di Leiden mediante utilizzo del kit di rilevazione di mutazioni del LightCycler Factor V Leiden[®]

Genotipo	Numero
Riferimento	17
FV G16191 A eterozigote	13
FV G16191 A omozigote	0

Il sangue intero è stato prelevato da 30 singoli donatori e il DNA genomico è stato purificato da 200 µl di sangue intero mediante l’uso del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Lo stato allelico nel loco FV G1691 A è stato determinato mediante l’utilizzo del kit di rilevazione di mutazioni del LightCycler Factor V Leiden (gruppo Roche).

Tabella 4. Genotipizzazione del fattore V (FV) di Leiden mediante utilizzo di PCR endpoint e analisi Pyrosequencing® con PSQ-96 SNP-Reagent Kit su sistema Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotipo	Numero
Riferimento	17
FV G16191 A eterozigote	13
FV G16191 A omozigote	0

Il sangue intero è stato prelevato da 30 singoli donatori e il DNA genomico è stato purificato da 200 µl di sangue intero mediante l'uso del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Lo stato allelico nel loco FV G16191 A è stato determinato mediante l'utilizzo di PCR endpoint e analisi Pyrosequencing con PSQ-96 SNP-Reagent Kit sul sistema Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabella 5. Genotipizzazione della protrombina (PT) mediante utilizzo di PCR endpoint e analisi Pyrosequencing con PSQ-96 SNP-Reagent Kit su sistema Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotipo	Numero
Riferimento	30
PT G20210A eterozigote	0
PT G20210A omozigote	0

Il sangue intero è stato prelevato da 30 singoli donatori e il DNA genomico è stato purificato da 200 µl di sangue intero mediante l'uso del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Lo stato allelico nel loco PT G20210A è stato determinato mediante l'utilizzo di PCR endpoint e analisi Pyrosequencing con il kit di reagenti PSQ-96 SNP sul sistema Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabella 6. Analisi dei polimorfismi T112C e C158T del gene ApoE mediante utilizzo di PCR endpoint, con sequenziamento dell'amplicone mediante kit di sequenziamento dei cicli di reazioni pronte BigDye®™ v1.1 e separazione su ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer

Genotipo	Numero
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Altro	0

Il sangue intero è stato prelevato da 10 singoli donatori e il DNA genomico è stato purificato da 200 µl di sangue intero mediante l'uso del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. L'analisi dei polimorfismi T112C e C158T del gene ApoE è stata eseguita mediante l'utilizzo di PCR endpoint, con sequenziamento dell'amplicone mediante kit di sequenziamento dei cicli di reazioni pronte BigDye v1.1 e separazione su ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific o sue controllate).

Tabella 7. Effetti sulle prestazioni della PCR dei volumi di eluizione e dell'eluato utilizzati nella PCR

Volume di eluizione	Volume di eluito 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%

* I valori mostrano la % di risultati positivi in analisi PCR e rappresentano la media di 48 campioni.

Stabilità degli eluiti

Nei test di conservazione con eluiti generati mediante l'utilizzo del QIAamp DNA Blood Mini Kit (kit di laboratorio per uso generico basato sulla stessa tecnologia), è stato dimostrato che il DNA eluito dalle QIAamp Mini Spin Columns con il Buffer AE è stabile fino a 8 anni se conservato a temperature comprese tra 2 e 8°C o tra -30 e -15°C (Figura 7). Tuttavia, sono attualmente in corso studi a lungo termine sulla stabilità degli eluiti ottenuti con il QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

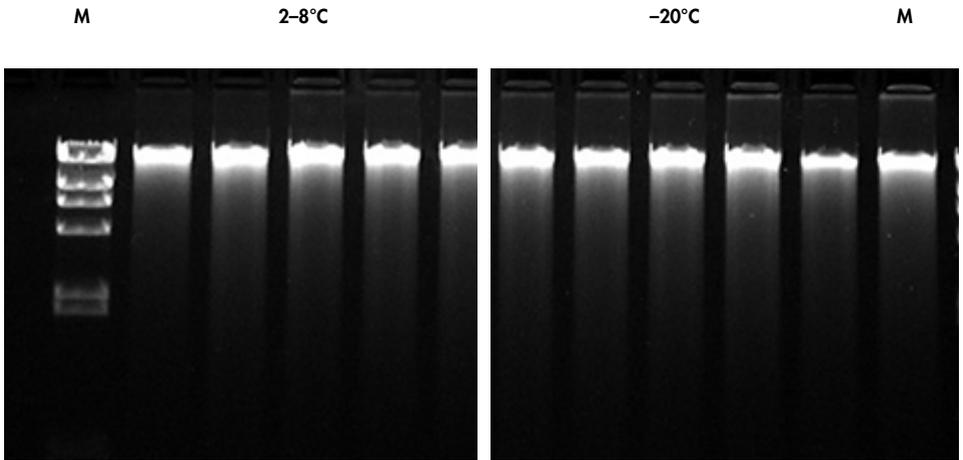
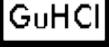


Figura 7. Stabilità a lungo termine del DNA isolato e purificato mediante utilizzo di colonne spin QIAamp Mini. Il DNA è stato purificato utilizzando il QIAamp DNA Blood Mini Kit, eluito in 200 µl di Buffer AE e conservato a 2-8°C o -20°C per 8 anni. I campioni di DNA sono stati analizzati su un gel di agarosio colorato con bromuro di etidio. M: marcatore.

Simboli

I seguenti simboli potrebbero comparire nelle istruzioni per l'uso o su confezioni ed etichette:

Simbolo	Definizione del simbolo
	Contenuto di reagenti sufficiente per <N> reazioni
	Data di scadenza
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Al momento della consegna
	Aprire alla consegna; conservare le colonne spin QIAamp Mini a 2–8°C
	Numero di catalogo
	Numero di lotto
	Numero di materiale (vale a dire, l'etichetta del componente)
	Componenti
	Contenuto
	Numero
	Codice GTIN
Rn	"R" indica la revisione delle Istruzioni per l'uso (manuale) e "n" indica il numero della revisione
	Limite di temperatura

Simbolo	Definizione del simbolo
	Produttore
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Volume
	Annotare la data corrente dopo aver aggiunto etanolo al flacone
	Aggiunta
	Liofilizzato
	Ricostituito in
	Etanolo
	Guanidina cloridrato
	Subtilisina
	Porta a
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Nota importante

Informazioni per gli ordini

Prodotto	Contenuto	N. cat.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Per 50 preparazioni di DNA: colonne spin QIAamp Mini, VacConnector, QIAGEN Protease, reagenti, tamponi e provette per la raccolta	61104
Prodotti correlati		
QIAcube Connect MDx*	Strumento e garanzia di 1 anno sulle parti e sulla funzionalità di laboratorio	9003070
Accessori		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	Collettore da vuoto per processare 1–24 colonne spin: Collettore da vuoto QIAvac 24 Plus, tappi luer, raccordi rapidi	19413
Vacuum Pump†	Pompa da vuoto universale	84020
VacConnectors†	500 connettori monouso da utilizzare con colonne spin QIAamp su connettori luer	19407
Rotor Adapters	Per 240 preparazioni: 240 adattatori per rotore monouso e 240 provette per eluizione (1,5 ml); per uso con QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Supporto per 12 adattatori di rotore monouso, per l'uso con QIAcube	990392

Prodotto	Contenuto	N. cat.
Sample Tubes CB	1000 provette a fondo conico senza base flangiata (2 ml) per l'uso con QIAcube e QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Per caricamento del rack dell'agitatore QIAcube	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Flaconi per reagenti (30 ml) con tappi; confezione da 6; per l'uso con QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Puntali con filtro monouso, su rack; (8 x 128). Per l'uso con QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Puntali con filtro monouso, foro largo, in rack; (8 x 128); non necessari per tutti i protocolli. Per l'uso con QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Puntali con filtro monouso, su rack; (8 x 128). Da utilizzare con gli strumenti QIAcube e QIASymphony SP/AS	990332

* QIAcube Connect MDx non è disponibile in tutti i paesi. Per ulteriori domande contattare i servizi tecnici QIAGEN.

† Da utilizzare con i protocolli per il vuoto.

Per le informazioni aggiornate sulla licenza e le clausole di esclusione della responsabilità per i singoli prodotti, consultare il manuale del kit o il manuale utente QIAGEN specifico. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili sul sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti ai servizi tecnici QIAGEN o al proprio distributore locale.

Cronologia delle revisioni del documento

Revisione	Descrizione
R2, 01/2021	<p>Aggiornamenti alle sezioni Purificazione automatizzata su QIAcube/QIAcube Connect MDx, Avvertenze e precauzioni e Protocollo: isolamento e purificazione di DNA genomico da campioni di sangue mediante utilizzo di una microcentrifuga o di QIAcube/QIAcube.</p> <p>Aggiunti i riferimenti a QIAcube Connect MDx e ai suoi accessori.</p> <p>Rimosso il riferimento al CD nella sezione Contenuto del kit.</p> <p>Modifiche editoriali e di layout.</p>

Pagina lasciata vuota intenzionalmente.

Pagina lasciata vuota intenzionalmente.

Contratto di Licenza Limitato per QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

L'utilizzo di questo prodotto comporta per l'acquirente o l'utente del prodotto l'accettazione dei seguenti termini:

1. Il prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e al presente manuale e soltanto con i componenti contenuti nel pannello. QIAGEN non concede nessuna licenza, nell'ambito della sua proprietà intellettuale, per l'utilizzo o l'integrazione dei componenti di questo pannello con qualsiasi componente non incluso in questo pannello, fatta eccezione per i protocolli forniti con il prodotto, il presente manuale e i protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com. Alcuni di questi protocolli aggiuntivi sono stati messi a punto da utenti QIAGEN a beneficio degli utenti QIAGEN. Si tratta di protocolli che non sono stati collaudati o ottimizzati da QIAGEN. QIAGEN non offre alcuna garanzia in merito a essi né alla violazione da parte di essi di eventuali diritti di terzi.
2. Al di là delle licenze espressamente dichiarate, QIAGEN non fornisce nessuna garanzia che questo pannello e/o l'uso o gli usi dello stesso non costituiscano violazione dei diritti di terzi.
3. Questo pannello e i relativi componenti sono concessi in licenza per un unico uso e non possono essere riutilizzati, rinnovati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del pannello acconsentono a non intraprendere e a non permettere a nessun altro di intraprendere qualsiasi iniziativa che possa determinare o agevolare qualunque azione di cui si fa divieto sopra. QIAGEN farà valere i divieti di questo Contratto di licenza limitata presso qualsiasi foro e otterrà il risarcimento di tutte le spese sostenute a scopo di indagine e consulenza legale, ivi comprese le parcelle degli avvocati, con riferimento a qualsiasi causa legale intentata per fare rispettare questo Contratto di licenza limitata o qualsiasi altro diritto di proprietà intellettuale correlato a questo pannello e/o ai relativi componenti.

Per i termini di licenza aggiornati, visitare il sito www.qiagen.com.

Marchi commerciali: 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®, *Al/Ser*™, BigDye®, Dynal® (Thermo Fisher Scientific o sue controllate). I marchi registrati, i marchi di fabbrica ecc. utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, non possono essere considerati non protetti dalla legge.

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

Ordini www.qiagen.com/shop | Assistenza tecnica support.qiagen.com | Sito web www.qiagen.com