มกราคม 2021

QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit
คำแนะนำสำหรับการใช้งาน (คู่มือ)

Σ 50

เวอร์ชั่น 2

IVD

สำหรับใช้ในการวินิจฉัยภายนอกร่างกาย

CE

REF 61104

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

R2 MAT 1122788TH

Sample to Insight

QIAGEN

สารบัญ

จุดประสงค์การใช้งาน 5

คำอธิบายและหลักการ 6

การทำให้เซลล์เลือดแตกตัว 6

การเชื่อม DNA จีโนมเข้ากับเมมเบรนของคอลัมน์สปินใน QIAamp Mini 6

การทำให้บริสุทธิ์โดยอัตโนมัติบน QIAcube / QIAcube Connect MDx 7

สรุปและคำอธิบาย 10

วัสดุที่จัดเตรียมให้ 11

ส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์ 11

วัสดุที่ต้องใช้แต่ไม่ได้จัดหาให้ 12

คำเตือนและข้อควรระวัง 14

ข้อมูลด้านความปลอดภัย 14

การเก็บและการจัดการน้ำยา 16

การจัดเก็บและการจัดการตัวอย่าง 16

ขจัดสิ่งปนเปื้อนที่ตกค้าง 17

การชะล้าง DNA ของจีโนมบริสุทธิ์ 17

หมายเหตุสำคัญ 18

จุดสำคัญก่อนเริ่มเกณฑ์วิธี 18

การเตรียมน้ำยาและบัฟเฟอร์ 18

การจัดการคอลัมน์สปิน QIAamp Mini 20

การชะล้าง DNA ของจีโนม 20

ผลผลิตและคุณภาพของ DNA จีโนม 20

การตั้งค่าระบบสุญญากาศ QIAvac 24 Plus 21

กระบวนการ 23
เกณฑ์วิธี: การแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของ DNA จีโนมจากตัวอย่างเลือดโดยใช้ระบบสุญญากาศ.....23
เกณฑ์วิธี: การแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของ DNA จีโนมจากตัวอย่างเลือดโดยใช้เครื่องปั่นแยกขนาดเล็กหรือ QIAcube / QIAcube Connect MDx.....27
การควบคุมคุณภาพ 30
ข้อจำกัด 30
คุณลักษณะสมรรถนะ.....31
สัญลักษณ์.....36
ข้อมูลการสั่งซื้อ.....38
ประวัติการแก้ไขเอกสาร 40

จุดประสงค์การใช้งาน

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit เป็นระบบที่ใช้เทคโนโลยีซิลิกาเมมเบรน (เทคโนโลยี QIAamp) สำหรับการแยกและทำให้ DNA จีโนมจากตัวอย่างทางชีววิทยาบริสุทธิ์

ผลิตภัณฑ์นี้สร้างขึ้นเพื่อให้ผู้เชี่ยวชาญใช้งาน เช่น นักเทคนิคและแพทย์ที่ได้รับการฝึกอบรมเกี่ยวกับเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุล

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit มีไว้สำหรับใช้ในการวินิจฉัยภายนอกร่างกาย

คำอธิบายและหลักการ

แต่ละกระบวนการของ QIAamp DSP DNA Blood Mini ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน:

- การทำให้เซลล์ในตัวอย่างเลือดแตก
- การเชื่อม DNA จีโนมในไลเสตเซลล์เข้ากับเมมเบรนของคอลัมน์สปินใน QIAamp Mini
- ล้างเมมเบรน
- การขจัด DNA จีโนมออกจากเมมเบรน

คู่มือเล่มนี้ประกอบด้วยโปรโตคอลสำหรับกระบวนทางเลือกของ QIAamp DSP DNA Blood Mini 2 กระบวนการได้แก่ กระบวนการปั่นซึ่งต้องใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง และกระบวนการสุญญากาศซึ่งต้องใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงและระบบสุญญากาศ (ดูโฟลว์ชาร์ตหน้า 9) กระบวนการปั่นสามารถทำได้โดยอัตโนมัติบน QIAcube และ QIAcube Connect MDx

การทำให้เซลล์เลือดแตกตัว

ตัวอย่างสลายตัวภายใต้สภาวะที่มีการเสียสภาพที่อุณหภูมิสูงขึ้น การสลายจะทำเมื่อมี QIAGEN Protease (QP) และบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL)

การเชื่อม DNA จีโนมเข้ากับเมมเบรนของคอลัมน์สปินใน QIAamp Mini

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเชื่อม DNA จีโนมเข้ากับเมมเบรนคอลัมน์สปินใน QIAamp Mini จะใส่เอทานอลลงในไลเสตเป็นสิ่งแรก จากนั้นไลเสตแต่ละตัวจะถูกนำไปใช้กับคอลัมน์สปินของ QIAamp Mini และ DNA จีโนมจะถูกดูดซับลงบนเมมเบรนซิลิกาขณะที่ไลเสตถูกดึงผ่านด้วยแรงดันสุญญากาศหรือแรงเหวี่ยง

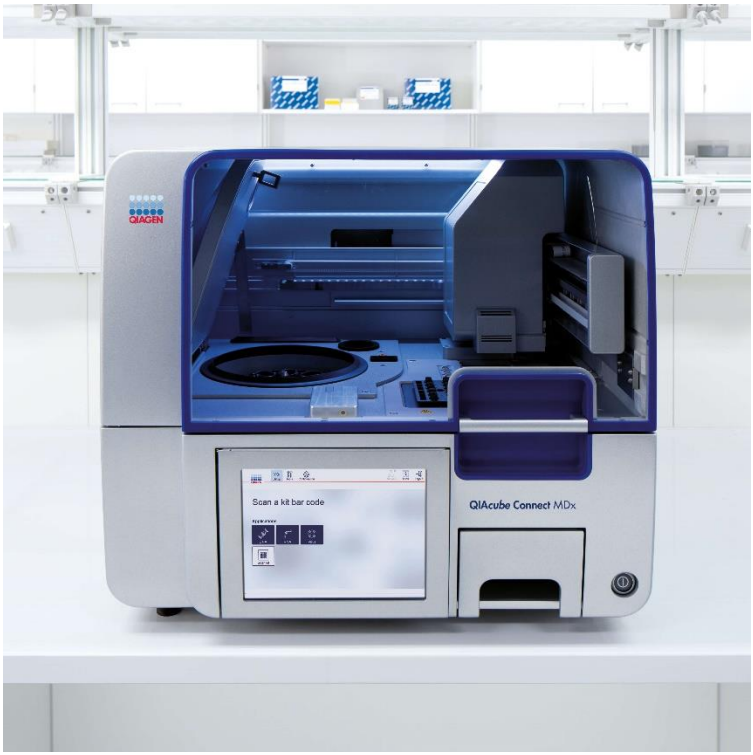
การทำให้บริสุทธิ์โดยอัตโนมัติบน QIAcube / QIAcube Connect MDx

QIAcube และ QIAcube Connect MDx ทำการแยกและทำให้กรดนิวคลีอิกบริสุทธิ์โดยอัตโนมัติ สามารถประมวลผลได้สูงสุด 12 ตัวอย่างต่อการทำงานหนึ่งครั้ง

การเตรียมตัวอย่างโดยใช้ QIAcube และ QIAcube Connect MDx ทำตามขั้นตอนเดียวกับขั้นตอนที่ทำด้วยตนเอง (เช่น แตก เชื่อม ล้าง และแยกด้วยการละลาย) ทำให้คุณสามารถใช้ QIAamp DSP DNA Mini Kit ต่อไปในการทำให้ DNA คุณภาพสูงบริสุทธิ์

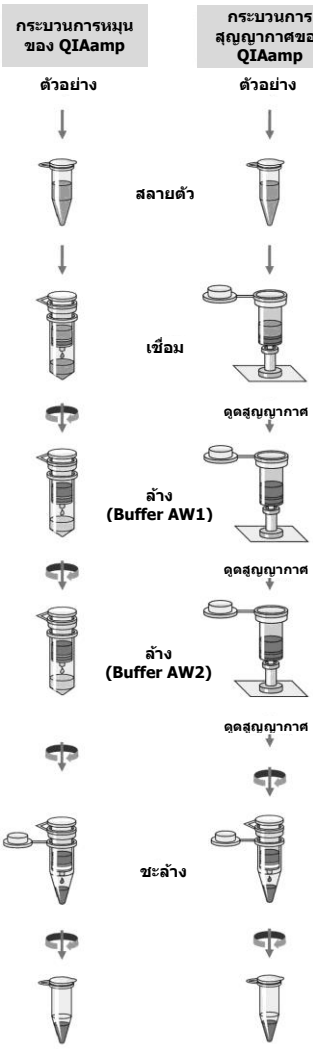
หากใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit บน QIAcube หรือบน QIAcube Connect MDx โดยอัตโนมัติ เครื่องมืออาจประมวลผลได้น้อยกว่า 50 ตัวอย่างเนื่องจากปริมาณที่ตายแล้ว การระเหย และปริมาณน้ำยาเพิ่มเติมที่ใช้ผ่านการใส่ด้วยปิเปตอัตโนมัติ QIAGEN รับประกันเฉพาะการเตรียมตัวอย่าง 50 ชิ้นผ่านการใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ด้วยตนเอง

ภาพที่ 1 QIAcube



ภาพที่ 2 QIAcube Connect MDx

สปิน QIAamp DSP DNA Blood Mini และกระบวนการสุญญากาศ



อ่านโปรโตคอล (หน้า 23 และ 27) อย่างรอบคอบก่อนที่จะเริ่มใช้งาน

ใส่ QP 20 µl ลงใน LT, ตัวอย่าง 200 µl และ AL Vortex 200 µl เป็นเวลา 15 วินาที
บ่มเป็นเวลา 10 นาที (± 1 นาที) ที่ 56°C (± 1°C)
เติมเอทานอล 200 µl
Vortex เป็นเวลา 15 วินาที

ถ่ายโอนไลเสตไปยังคอลัมน์หมุน QIAamp Mini
กระบวนการปั่น: หมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 1 นาทีที่ 6,000 x *g*

กระบวนการสุญญากาศ: ทำการดูดสุญญากาศ

กระบวนการปั่น: วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ใน WT ใหม่ ใส่ AW1 500 µl และหมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 1 นาทีที่ 6,000 x *g*

กระบวนการสุญญากาศ: ใส่ AW1 750 µl และทำการดูดสุญญากาศ

กระบวนการปั่น: วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ใน WT ใหม่ ใส่ AW2 500 µl และหมุนเหวี่ยง 1 นาทีที่ความเร็วเต็มที่ (ประมาณ 20,000 x *g* หรือ 14,000 รอบต่อนาที)

กระบวนการสุญญากาศ: ใส่ AW2 750 µl และทำการดูดสุญญากาศ

วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ใน WT

หมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 3 นาทีด้วยความเร็วเต็มที่ (ประมาณ 20,000 x *g* หรือ 14,000 รอบต่อนาที)

วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ใน ET

ใส่ AE 50–200 µl และบ่มเป็นเวลา 1 นาที

หมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 1 นาทีที่ 6,000 x *g*

สรุปและคำอธิบาย

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ใช้เทคโนโลยีที่มั่นคง เป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็วในการแยกและทำให้ DNA จีโนมบริสุทธิ์จากเลือดครบส่วน 200 µl

กระบวนการของ QIAamp DSP DNA Blood Mini ออกแบบมาสำหรับการประมวลผลตัวอย่างเลือดหลาย ๆ ตัวอย่างพร้อมกัน ทำให้ได้ DNA ที่บริสุทธิ์พร้อมใช้งาน กระบวนการเหล่านี้เหมาะสำหรับใช้กับเลือดครบส่วนสดหรือแช่แข็ง และเลือดที่ผ่านการจัดการด้วยซิเตรตหรือ EDTA

กระบวนการหมุนและสุญญากาศ QIAamp DSP อย่างง่ายเหมาะสำหรับการประมวลผลหลายตัวอย่างพร้อมกัน กระบวนการหมุน QIAamp บางขั้นตอนสามารถดำเนินการโดยอัตโนมัติบน QIAcube หรือ QIAcube Connect MDx เพื่อมาตรฐานที่ดีขึ้นและความง่ายในการใช้ง่าย (หน้า 7)

ไม่จำเป็นต้องแยกเม็ดเลือดขาวออกก่อน ขั้นตอนนี้ไม่จำเป็นต้องทำการสกัดฟีนอล / คลอโรฟอร์มหรือการตกตะกอนของแอลกอฮอล์ และผู้ใช้มีปฏิสัมพันธ์กับตัวอย่างน้อย ทำให้สามารถจัดการตัวอย่างที่อาจติดเชื้อได้อย่างปลอดภัย ขั้นตอนนี้ออกแบบมาเพื่อลดการปนเปื้อนข้าม-ระหว่างตัวอย่าง DNA บริสุทธิ์ที่พร้อมใช้งานใน PCR หรือกระบวนการอื่น ๆ หรืออีกทางหนึ่งคือสามารถเก็บไว้ที่ −25°C ถึง −15°C เพื่อใช้ในภายหลัง

วัสดุที่จัดเตรียมให้

ส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
หมายเลขแค็ตตาล็อก			61104
จำนวน prep			50*
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (WT) (QIAamp Mini Spin Columns และหลอดสำหรับการล้าง) (2 ml)	COL	50
ET	Elution Tubes (หลอดชะล้าง) (1.5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors	VAC CON	50
LT	Lysis Tubes (หลอดสำหรับการสลายตัว) (1.5 ml)	LYS TUBE	50
WT	Wash Tubes (หลอดสำหรับการล้าง) (2 ml)	WASH TUBE	3 x 50
AL	Lysis Buffer (บัฟเฟอร์การสลายตัว)†	LYS BUF	12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (บัฟเฟอร์การล้าง 1)† (เข้มข้น)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (บัฟเฟอร์การล้าง 2)‡ (เข้มข้น)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AE	Elution Buffer (บัฟเฟอร์การชะล้าง)‡	ELU BUF	25 ml
PS	Protease Solvent (ตัวทำละลายโปรตีเอส)‡	QPROT SOLV	2 ml
QP	QIAGEN Protease§	QPROT	1 ขวด
–	ข้อแนะนำการใช้งาน (คู่มือ)		1

* หากใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit บน QIAcube หรือบน QIAcube Connect MDx โดยอัตโนมัติ เครื่องมืออาจประมวลผลได้น้อยกว่า 50 ตัวอย่างเนื่องจากปริมาณที่ตายแล้ว การระเหย และปริมาณน้ำยาเพิ่มเติมที่ใช้ผ่านการใส่ด้วยปิเปตอัตโนมัติ QIAGEN รับประกันเฉพาะการเตรียมตัวอย่าง 50 ชิ้นผ่านการใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ด้วยตนเอง

† มีกวานีดีนไฮโดรคลอไรด์ ไม่สามารถใช้ได้กับสารฆ่าเชื้อที่มีสารฟอกขาว สำหรับข้อมูลเพิ่มเติม โปรดดู ข้อมูลด้านความปลอดภัย ในหน้า 14

‡ มีโซเดียมเอไซด์เป็นสารกันบูด

§ ปริมาณสารแขวนลอย 1.2 ml ดู "การเตรียมน้ำยาและบัฟเฟอร์" ในหน้า 19

วัสดุที่ต้องใช้แต่ไม่ได้จัดหาให้

เมื่อทำงานกับสารเคมี ให้สวมใส่เสื้อคลุมห้องปฏิบัติการ ถุงมือแบบใช้แล้วทิ้ง และแว่นป้องกันดวงตาที่เหมาะสมเสมอ สำหรับข้อมูลเพิ่มเติม โปรดศึกษาเอกสารข้อมูลความปลอดภัย (Safety Data Sheet, SDS) ที่เหมาะสมจากผู้จัดจำหน่ายของผลิตภัณฑ์นั้น

สำหรับกระบวนการหมุนและสุญญากาศ

- เอทานอล (96–100%)
- ปิเปต*และหัวปิเปต (เพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้าม ขอแนะนำอย่างยิ่งให้ใช้หัวปิเปตที่มีการป้องกันละอองลอย)
- ถุงมือแบบใช้แล้วทิ้ง
- บล็อกทำความร้อน*สำหรับการสลายตัวอย่างที่ 56°C (เราแนะนำ Eppendorf® Thermomixer® สะดวกสบายด้วยเทอร์โมบล็อกสำหรับหลอดทดลองขนาดเล็ก 1.5 ml†)
- ไมโครเซนติฟิวจ์*
- กระบอกตวง (50 ml)
- เครื่องผสมสารละลาย

สำหรับกระบวนการดูดสุญญากาศเท่านั้น

- ระบบสุญญากาศ QIAvac 24 Plus (หมายเลขแค็ตตาล็อก 19413) หรือเทียบเท่า
- VacConnectors (หมายเลขแค็ตตาล็อก 19407)
- VacValves (หมายเลขแค็ตตาล็อก 19408)
- QIAvac Connecting System (หมายเลขแค็ตตาล็อก 19419)
- Vacuum Pump (หมายเลขแค็ตตาล็อก 84020)
- Vacuum Regulator (หมายเลขแค็ตตาล็อก 19530)

* เพื่อให้แน่ใจว่าตัวอย่างได้รับการประมวลผลอย่างถูกต้องในกระบวนการของ QIAamp DSP DNA Blood Mini เราขอแนะนำเป็นอย่างยิ่งให้ปรับเทียบเครื่องมือ (เช่น ปิเปตและบล็อกทำความร้อน) ตามคำแนะนำของผู้ผลิต

† นี่ไม่ใช่รายชื่อซัพพลายเออร์ทั้งหมดและไม่รวมถึงผู้จำหน่ายอุปกรณ์ด้านชีวภาพที่สำคัญหลายราย

สำหรับขั้นตอนอัตโนมัติเท่านั้น

- Rotor Adapters หมายเลขแค็ตตาล็อก 990394
- Rotor Adapter Holder หมายเลขแค็ตตาล็อก 990392
- Sample Tubes CB หมายเลขแค็ตตาล็อก 990382 (หลอดใส่ตัวอย่าง)
- Shaker Rack Plugs หมายเลขแค็ตตาล็อก 9017854
- Reagent Bottles, 30 ml, หมายเลขแค็ตตาล็อก 990393
- Filter Tips, 1,000 µl, หมายเลขแค็ตตาล็อก 990352
- Filter Tips, 200 µl, หมายเลขแค็ตตาล็อก 990332
- SafeSeal Tube, 1.5 mL, Sarstedt® (หมายเลขแค็ตตาล็อก 72.706)

คำเตือนและข้อควรระวัง

โปรดทราบว่าคุณอาจต้องรายงานเหตุการณ์ร้ายแรงที่เกิดขึ้นเกี่ยวกับอุปกรณ์ไปยังผู้ผลิตและหน่วยงานกำกับดูแลที่มีผู้ใช้และ/หรือผู้ป่วย

ข้อมูลด้านความปลอดภัย

เมื่อทำงานกับสารเคมี ให้สวมใส่เสื้อคลุมห้องปฏิบัติการ ถุงมือแบบใช้แล้วทิ้ง และแว่นป้องกันดวงตาที่เหมาะสมเสมอ สำหรับข้อมูลเพิ่มเติม โปรดศึกษาเอกสารข้อมูลความปลอดภัย (Safety Data Sheet, SDS) ที่เหมาะสม เอกสารเหล่านี้มีให้บริการทางออนไลน์ในรูปแบบ PDF ที่ www.qiagen.com/safety ที่ซึ่งคุณจะสามารถค้นหา ดู และพิมพ์ SDS ของชุดอุปกรณ์ QIAGEN และส่วนประกอบชุดอุปกรณ์แต่ละรายการได้

ข้อควรระวัง: ห้ามเติมสารฟอกขาวหรือสารละลายที่เป็นกรดลงในของเสีย-จากการเตรียมตัวอย่างโดยตรง

บัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) และบัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1) ประกอบด้วยกวานีดีนไฮโดรคลอไรด์ ซึ่งสามารถสร้างสารประกอบที่มีปฏิกิริยาสูงเมื่อรวมกับสารฟอกขาว หากของเหลวที่มีบัฟเฟอร์เหล่านี้หก ให้ทำความสะอาดด้วยผงซักฟอกในห้องปฏิบัติการที่เหมาะสมและน้ำ หากของเหลวที่หกรั่วไหลมีสารที่อาจทำให้เกิดการติดเชื้อ ให้ทำความสะอาดบริเวณที่ได้รับผลกระทบก่อนด้วยผงซักฟอกสำหรับห้องปฏิบัติการและน้ำ จากนั้นจึงใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1% (v / v) หากขวดบัฟเฟอร์เสียหายหรือรั่ว ให้สวมถุงมือและแว่นตาป้องกันเมื่อทิ้งขวดเพื่อหลีกเลี่ยงการบาดเจ็บส่วนบุคคลหรือการบาดเจ็บต่อผู้อื่น

QIAGEN ยังไม่ได้ทดสอบของเสียที่เป็นของเหลวอันเกิดจากกระบวนการของ QIAamp DSP DNA Blood Mini เพื่อหาวัสดุติดเชื้อที่ตกค้าง การปนเปื้อนของของเสียที่เป็นของเหลวด้วยวัสดุติดเชื้อที่ตกค้างนั้นอาจเกิดได้ยาก แต่ไม่สามารถยืนยันได้อย่างเด็ดขาดว่าไม่มี ดังนั้นจึงควรพิจารณาของเสียที่เป็นของเหลวว่าเป็นขยะติดเชื้อ และจัดการและทิ้งตามกฎระเบียบด้านความปลอดภัยในท้องถิ่น

ข้อความเกี่ยวกับความเสี่ยงและความปลอดภัยต่อไปนี้ใช้กับส่วนประกอบของ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

บัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) และบัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1)

ประกอบด้วย: กวานีดีนไฮโดรคลอไรด์ คำเตือน! เป็นอันตรายหากกลืนกินหรือหายใจเข้าไป ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวหนังได้ ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อดวงตาอย่างรุนแรง สวมถุงมือป้องกัน / ชุดป้องกัน / แว่นป้องกันดวงตา / หน้ากากป้องกันใบหน้า

QIAGEN Protease (QP)

ประกอบด้วย: ซับทิลิซิน อันตราย! อันตรายหากกลืนกินเข้าไป ก่อให้เกิดการระคายเคืองผิวหนังได้ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อดวงตาอย่างรุนแรง หากหายใจเข้าไป อาจทำให้เกิดอาการภูมิแพ้หรือหอบหืดหรือหายใจลำบาก อาจก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจได้ หลีกเลี่ยงการหายใจเอาฝุ่น / ควัน / ก๊าซ / ละออง / ไอระเหย / สเปรย์ เข้าไป สวมถุงมือป้องกัน / ชุดป้องกัน / แว่นป้องกันดวงตา / หน้ากากป้องกันใบหน้า สวมอุปกรณ์ป้องกันระบบทางเดินหายใจ หากเข้าตา: ให้ใช้น้ำสะอาดล้างตาอย่างระมัดระวังเป็นเวลาหลายนาที หากใส่คอนแทคเลนส์ ให้ถอดออกก่อนหากทำได้โดยง่าย แล้วจึงทำการล้างตาต่อไป หากมีการสัมผัสหรือเกี่ยวข้อง: ติดต่อศูนย์พิษวิทยาหรือหมอ/แพทย์ทันที เคลื่อนย้ายผู้ป่วยไปยังที่ที่มีอากาศบริสุทธิ์และพักผ่อนในท่าที่หายใจได้สะดวก

การเก็บและการจัดการน้ำยา

คอลัมน์สปิน QIAamp Mini ควรเก็บรักษาที่ 2–8°C เมื่อเดินทางมาถึงและสามารถใช้ได้จนถึงวันหมดอายุบนกล่องชุดอุปกรณ์

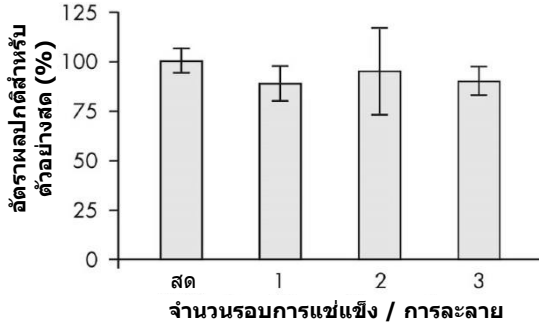
บัฟเฟอร์ทั้งหมดสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (15–25°C) จนถึงวันหมดอายุบนกล่องชุดอุปกรณ์

QIAGEN Protease (QP) แบบแห้งสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (15–25°C) จนถึงวันหมดอายุของชุดอุปกรณ์โดยไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพ QIAGEN Protease ที่สร้างขึ้นใหม่จะคงสภาพเสถียรได้นานถึง 1 ปีเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2–8°C แต่จนกว่าจะถึงวันหมดอายุของชุดอุปกรณ์เท่านั้น

บัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1) ที่สร้างขึ้นใหม่และบัฟเฟอร์การล้าง 2 (AW2) ที่สร้างขึ้นใหม่จะคงอยู่ในสภาพเสถียรได้นานถึง 1 ปีเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (15–25°C) แต่จนกว่าจะถึงวันหมดอายุของชุดอุปกรณ์เท่านั้น

การจัดเก็บและการจัดการตัวอย่าง

Cryoprecipitate ที่เกิดขึ้นระหว่างการละลายตัวอย่างที่แช่แข็งจะไปอุดตันเมมเบรนคอลัมน์สปินของ QIAamp Mini หากสามารถมองเห็น cryoprecipitate ได้ ให้หลีกเลี่ยงการดูดสิ่งเหล่านี้ในขณะดูดตัวอย่าง ผลของการแช่แข็งและการละลายตัวอย่างเลือดต่อการทำให้ DNA บริสุทธิ์โดยใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ได้รับการพิจารณาแล้ว (ดู ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ผลของการแช่แข็งและการละลายตัวอย่างเลือด เลือดที่ผ่านการจัดการด้วย EDTA จะถูกแช่แข็งและละลายได้ไม่เกิน 3 ครั้ง จากนั้นจึงนำไปเข้ากระบวนการทำให้ DNA บริสุทธิ์โดยใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ผล DNA ที่ได้จากการคำนวณถูกทำให้เป็นมาตรฐานของผลผลิตจากตัวอย่างสด (100%) กราฟแต่ละแท่งแสดงผลลัพธ์จากการจำลอง 32 รายการ (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ปริมาณ DNA ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ในกระบวนการของ QIAamp DSP DNA Blood Mini ขึ้นอยู่กับปริมาณเม็ดเลือดขาวของตัวอย่างเลือดแต่ละตัวอย่าง ด้วยกระบวนการปั่นหรือสุญญากาศ DNA จีโนมจะถูกทำให้บริสุทธิ์จากตัวอย่างเลือด 200 µl ที่ได้จากผู้บริจาคที่มีสุขภาพดี สามารถใช้หลอดหลักและยาต้านการแข็งตัวของเลือดที่แตกต่างกันเพื่อเก็บตัวอย่างเลือดสำหรับกระบวนการ QIAamp DSP DNA Blood Mini (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลผลิต DNA สัมพัทธ์เฉลี่ยจากตัวอย่างเลือดที่เก็บโดยใช้หลอดหลักและสารกันเลือดแข็งตัวต่าง ๆ

หลอดหลัก	ผู้ผลิต	หมายเลขแค็ตตาล็อก	ปริมาณที่กำหนด	ผลผลิตเฉลี่ย*
BD® Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6.4 µg
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6.6 µg
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6.4 µg
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6.5 µg
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8.5 ml	6.3 µg
Vacuette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6.5 µg
Vacuette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6.3 µg

DNA ของจีโนมถูกทำให้บริสุทธิ์จากตัวอย่างเลือด 200 µl ที่ได้จากผู้บริจาคที่มีสุขภาพดี (4.0 ถึง 9.0 x 10^6 เซลล์ต่อมล.)
* สำหรับหลอดหลักแต่ละหลอด ผลผลิตเฉลี่ยถูกกำหนดจาก 11 ตัวอย่างที่แบ่งเป็นสามส่วน

ขจัดสิ่งปนเปื้อนที่ตกค้าง

ในขณะที่ DNA ของจีโนมยังคงติดอยู่กับเมมเบรน QIAamp Mini Spin Column สารปนเปื้อนจะถูกล้างออกไปอย่างมีประสิทธิภาพโดยใช้บัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1) ก่อนแล้วจึงใช้บัฟเฟอร์การล้าง 2 (AW2)

การชะล้าง DNA ของจีโนมบริสุทธิ์

DNA ของจีโนมถูกแยกออกจากเมมเบรน QIAamp Mini Spin Column โดยใช้บัฟเฟอร์การชะล้าง (AE) ปริมาณ 50–200 µl DNA ที่ผ่านการชะล้างออกมาพร้อมสำหรับการใช้ในการตรวจปลายน้ำต่าง ๆ รวมถึงการตรวจสอบดาวน์สตรีมแบบต่าง ๆ สำหรับวินิจฉัยภายนอกร่างกาย

หมายเหตุสำคัญ

จุดสำคัญก่อนเริ่มเกณฑ์วิธี

- หลังจากได้รับชุดเครื่องมือแล้ว ให้ตรวจสอบส่วนประกอบของชุดว่ามีความเสียหายหรือไม่ หากการบรรจุแบบบลิสเตอร์หรือขวดบัฟเฟอร์เสียหาย โปรดติดต่อฝ่ายบริการด้านเทคนิคของ QIAGEN หรือตัวแทนจำหน่ายในพื้นที่ของคุณ ในกรณีของเหลวหก โปรดดูที่ "ข้อมูลด้านความปลอดภัย" (หน้า 14) อย่าใช้ส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์ที่เสียหาย เนื่องจากการใช้งานอาจทำให้ประสิทธิภาพของชุดอุปกรณ์ต่ำ
- เปลี่ยนหัวปิเปตเสมอระหว่างการถ่ายโอนของเหลวแต่ละครั้ง เพื่อลดการปนเปื้อนข้ามขอแนะนำให้ใช้หัวปิเปตที่มีที่ป้องกันละอองลอย
- ขั้นตอนการหมุนเหวี่ยงทั้งหมดดำเนินการที่อุณหภูมิห้อง (15–25°C)
- ควรใช้ถุงมือใช้แล้วทิ้งและตรวจสอบอย่างสม่ำเสมอว่าไม่ปนเปื้อนกับวัสดุตัวอย่าง ทิ้งถุงมือหากมีการปนเปื้อน
- เพื่อลดการปนเปื้อนข้ามให้เกิดน้อยที่สุด ให้เปิดทีละหลอดเท่านั้น
- อย่าใช้ส่วนประกอบชุดจากชุดอุปกรณ์อื่นกับชุดอุปกรณ์ที่คุณกำลังใช้งานอยู่ เว้นแต่หมายเลขล็อตจะเหมือนกัน
- หลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในชุดน้ำยา
- เพื่อลดความเสี่ยงของการติดเชื้อจากวัสดุที่อาจติดเชื้อให้เหลือน้อยที่สุด เราขอแนะนำให้ทำงานภายใต้สภาวะการไหลของอากาศแบบลามิเนตจนกว่าตัวอย่างจะแตกตัว
- ควรใช้ชุดนี้โดยบุคลากรที่ได้รับการฝึกฝนในห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยภายนอกร่างกายเท่านั้น

การเตรียมน้ำยาและบัฟเฟอร์

- การเตรียม QIAGEN Protease

  เติมตัวทำละลายโปรตีเอส (PS) 1.2 ml ลงในขวดของ QIAGEN Protease (QP) ในสภาพผลแห้ง แล้วผสมอย่างระมัดระวัง เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดฟอง ให้ผสมโดยการพลิกขวดหลาย ๆ ครั้ง ตรวจสอบให้แน่ใจว่า QIAGEN Protease (QP) ละลายหมดแล้ว

  สิ่งสำคัญ: ห้ามเติม QIAGEN Protease (QP) ลงในบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) โดยตรง

- **การเตรียมบัฟเฟอร์การล้าง 1**

  ใช้กระบอกตวงเติมเอทานอล 25 ml (96—100%) ลงในขวดที่มีส่วนผสมของบัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1) 19 ml เก็บบัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1) ที่สร้างใหม่ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (15—25°C)
  สิ่งสำคัญ: ผสมบัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1) ที่สร้างขึ้นใหม่โดยการกลับด้านขวดหลาย ๆ ครั้งก่อนเริ่มกระบวนการเสมอ

- **การเตรียมบัฟเฟอร์การล้าง 2**

  ใช้กระบอกตวงเติมเอทานอล 30 ml (96—100%) ลงในขวดที่มีส่วนผสมของบัฟเฟอร์การล้าง 2 (AW2) 13 ml เก็บบัฟเฟอร์การล้าง 2 (AW2) ที่สร้างใหม่ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (15—25°C)
  สิ่งสำคัญ: ผสมบัฟเฟอร์การล้าง 2 (AW2) ที่สร้างขึ้นใหม่โดยการกลับด้านขวดหลาย ๆ ครั้งก่อนเริ่มกระบวนการเสมอ

- **การเตรียมบัฟเฟอร์การชะล้าง**

  ชุดนี้มีบัฟเฟอร์การชะล้าง (AE) หนึ่งขวด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของบัฟเฟอร์การชะล้าง (AE) เราขอแนะนำอย่างยิ่งให้ใช้หัวปิเปตที่มีตัวกั้นละอองฝอยเมื่อหยอดบัฟเฟอร์การชะล้าง (AE) ออกจากขวดด้วยปิเปต และเปลี่ยนฝาขวดทันทีหลังจากนั้น
  สิ่งสำคัญ: บัฟเฟอร์การชะล้าง (AE) ประกอบด้วยโซเดียมอะไซด์ที่กันบูดซึ่งทำการดูดซับที่ 260 นาโนเมตร ดังนั้นเมื่อหาปริมาณ DNA ในการชะล้างโดยการวัดการดูดซับที่ 260 นาโนเมตร เมื่อพิจารณาความบริสุทธิ์ของ DNA ในการชะล้างโดยการวัดค่าการดูดซับที่ 260 นาโนเมตรและ 280 นาโนเมตร หรือเมื่อสแกนค่าการดูดซับในช่วงระหว่าง 220 นาโนเมตรถึง 350 นาโนเมตร ให้แน่ใจว่าช่องว่างประกอบด้วยโซเดียมเอไซด์ความเข้มข้นเดียวกันกับการชะล้าง ตัวอย่างเช่นหากเตรียมการชะล้างสำหรับการวัดค่าการดูดซับโดยเจือจางตัวชะล้าง 50 µl ด้วยน้ำ 100 µl คุณควรเตรียมช่องว่างโดยเจือจางบัฟเฟอร์การชะล้าง (AE) 50 µl ด้วยน้ำ 100 µl ใช้น้ำกลั่นสดใหม่สำหรับการเจือจาง

การจัดการคอลัมน์สปิน QIAamp Mini

เนื่องจากความไวของเทคโนโลยีการขยายกรดนิวคลีอิก จึงจำเป็นต้องมีข้อควรระวังต่อไปนี้เมื่อจัดการคอลัมน์สปิน QIAamp Mini เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้ามระหว่างการเตรียมตัวอย่าง:

- ใช้ตัวอย่างหรือโซลูชันกับคอลัมน์หมุน QIAamp Mini อย่างระมัดระวัง วางตัวอย่างลงในคอลัมน์สปิน QIAamp Mini โดยไม่ทำให้ขอบของคอลัมน์เปียก
- เปลี่ยนหัวปิเปตเสมอระหว่างการถ่ายโอนของเหลวแต่ละครั้ง ขอแนะนำให้ใช้หัวปิเปตที่มี-ที่กันละอองลอย
- หลีกเลี่ยงการสัมผัสเมมเบรนคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ด้วยหัวปิเปต
- หลังจากขั้นตอนการปั่นและเขย่าแต่ละขั้นตอน ให้นำหลอดทดลองไมโครเซนติฟิวจ์ไปปั่นแยกในเวลาสั้นๆ เพื่อขจัดหยดน้ำออกจากภายในฝา
- เปิดคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ทีละหนึ่งคอลัมน์เท่านั้นและระวังอย่าให้เกิดละอองลอย
- สวมถุงมือตลอดกระบวนการทั้งหมด ในกรณีที่ถุงมือกับตัวอย่างสัมผัสกัน ให้เปลี่ยนถุงมือทันที

การชะล้าง DNA ของจีโนม

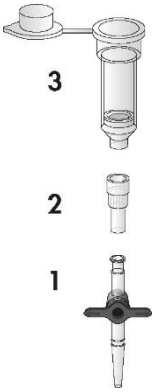
ปริมาตรของ DNA ที่แยกออกจากคอลัมน์สปิน QIAamp Mini อาจน้อยกว่าปริมาตรของบัฟเฟอร์การชะล้าง (AE) ที่ใช้กับคอลัมน์ได้ไม่เกิน 20 µl ปริมาณของการชะล้างที่กู้คืนขึ้นอยู่กับลักษณะของตัวอย่าง บัฟเฟอร์การชะล้าง (AE) ควรปรับให้เข้ากับอุณหภูมิห้อง (15–25°C) ก่อนที่จะนำไปใช้กับคอลัมน์ DNA ที่ผ่านการชะล้างจะถูกเก็บรวบรวมในท่อชะล้าง (ET) หากต้องการเก็บ DNA ไว้ได้นานถึง 4 สัปดาห์ ขอแนะนำให้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2–8°C สำหรับการจัดเก็บระยะยาว ขอแนะนำให้เก็บที่อุณหภูมิ –30 ถึง –15°C

ผลผลิตและคุณภาพของ DNA จีโนม

ผลผลิตและคุณภาพของ DNA จีโนมที่แยกได้เหมาะสำหรับขั้นตอนการตรวจหาปลายน้ำหลายประเภทเพื่อการวินิจฉัยระดับโมเลกุล การตรวจวินิจฉัยควรดำเนินการตามคำแนะนำของผู้ผลิต

การตั้งค่าระบบสุญญากาศ QIAvac 24 Plus

ตรวจสอบให้แน่ใจว่าคุณติดตั้งคอลัมน์สปิน QIAamp Mini, VacConnector (VC) และ VacValve อย่างถูกต้อง (ดูรูปที่ 4)



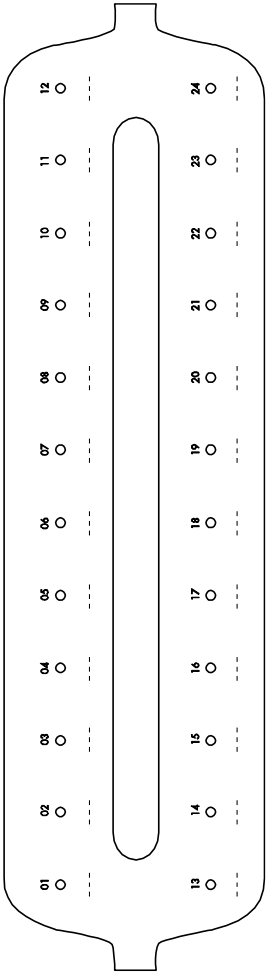
ภาพที่ 4 การประกอบชิ้นส่วนของ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit สำหรับการแปรรูปตัวอย่างด้วยสุญญากาศ (**1**) VacValve (**2**) VacConnector (VC) (**3**) คอลัมน์สปิน QIAamp Mini

หากใช้กระบวนการสุญญากาศกับระบบสุญญากาศของ QIAvac 24 Plus ขอแนะนำให้ติดฉลากหลอดสำหรับสลายตัว (LT), หลอดชะล้าง (ET) และคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ตามรูปแบบในรูปที่ 5 (ดูหน้าถัดไป) เพื่อไม่ให้ตัวอย่างปะปนกัน สามารถถ่ายสำเนาภาพนี้และติดป้ายกับชื่อของตัวอย่าง ขอแนะนำให้ใช้รูปแบบที่คล้ายกันหากใช้ระบบสุญญากาศอื่น ๆ หรือหากใช้กระบวนการปั่น

วันที่: _____

ผู้ปฏิบัติงาน: _____

ID การดำเนินงาน: _____



ภาพที่ 5 รูปแบบการติดฉลากสำหรับหลอดสลาย (LT), หลอดชะล้าง (ET) และคอลัมน์สปิน QIAamp Mini สำหรับใช้กับระบบสุญญากาศ QIAvac 24 Plus

กระบวนการ

เกณฑ์วิธี: การแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของ DNA จีโนมจากตัวอย่างเลือดโดยใช้ระบบสุญญากาศ

สำหรับการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของ DNA จีโนมจากตัวอย่างเลือดครบส่วน 200 µl ที่รักษาด้วย EDTA หรือซิเตรตโดยใช้ระบบสุญญากาศเช่น ระบบสุญญากาศ QIAvac 24 Plus

จุดสำคัญก่อนเริ่มงาน

ขั้นตอนด้านล่างนี้ให้คำแนะนำสำหรับการประมวลผลตัวอย่างเลือดเดียว อย่างไรก็ตาม สามารถประมวลผลตัวอย่างได้ถึง 24 ตัวอย่างในเวลาเดียวกันบนระบบสุญญากาศ QIAvac 24 Plus

สิ่งที่ต้องทำก่อนเริ่มต้นการทำงาน

- **ปรับตัวอย่างเลือดให้อยู่ที่อุณหภูมิห้องและตรวจสอบให้แน่ใจว่าผสมเข้ากัน-ดีแล้ว**
- **หากเกิดการตกตะกอนในบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) ให้ละลายโดยการบ่มที่อุณหภูมิ 56°C**
- **ตรวจสอบให้แน่ใจว่าบัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1), บัฟเฟอร์การล้าง 2 (AW2) และ QIAGEN Protease (QP) ได้รับการจัดเตรียมตามคำแนะนำใน "การเตรียมน้ำยาและบัฟเฟอร์" หน้า 18**
- **ปรับบัฟเฟอร์ชะล้าง (AE) ให้อยู่ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ในขั้นตอน 14**
- **ตั้งค่าบล็อกทำความร้อนที่ 56°C เพื่อใช้ในขั้นตอน 4**
- **เพื่อลดการปนเปื้อนข้ามให้น้อยที่สุด ให้ใส่ VacConnector (VC) ลงในอะแดปเตอร์ luer แต่ละตัวของระบบสุญญากาศ**
- **ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพที่ QIAGEN ใช้ทดสอบการปล่อยชุดการทำงานสำหรับชุดอุปกรณ์แต่ละล็อต ดังนั้น อย่าผสมน้ำยาจากชุดคิทที่ล็อตแตกต่างกัน และอย่ารวมน้ำยาแต่ละตัวจากล็อตน้ำยาที่แตกต่างกัน**
- **ตรวจสอบให้แน่ใจว่าขวดใส่ของเสียของระบบสุญญากาศว่างเปล่า และข้อต่อทั้งหมดต่อเข้าที่อย่างถูกต้อง**
- **สำหรับรายละเอียดเกี่ยวกับการทำงานของระบบสุญญากาศ โดยเฉพาะการบำรุงรักษา โปรดดูคู่มือที่ให้มาด้วย**

กระบวนการ

1. ใช้ปิเปตดูด QIAGEN Protease (QP) 20 µl ลงในหลอดสลายตัว (LT)

   หมายเหตุ: ตรวจสอบวันหมดอายุของโปรตีเอสที่สร้างขึ้นใหม่ก่อนใช้

2. ใส่ตัวอย่างเลือด 200 µl ลงในหลอดสลายตัว (LT)
3. เติมบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) 200 µl ลงในหลอดสลายตัว (LT) ปิดฝาและผสมด้วยการปั่นแบบกระตุก-เป็นเวลา 15 วินาที

   เพื่อให้แน่ใจว่าการสลายมีประสิทธิภาพ จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องผสมตัวอย่างและบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) ให้เข้ากันอย่างทั่วถึงเพื่อให้ได้สารละลายที่เป็นเนื้อเดียวกัน

   หมายเหตุ: เนื่องจากบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) มีความหนืดสูง ต้องแน่ใจว่าเติมบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) ในปริมาตรที่ถูกต้องโดยการหยดด้วยปิเปตอย่างระมัดระวังหรือโดยใช้ปิเปตที่เหมาะสม

   หมายเหตุ: ห้ามเติม QIAGEN Protease (QP) ลงในบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) โดยตรง
4. บ่มที่ 56°C (± 1°C) เป็นเวลา 10 นาที (± 1 นาที)
5. หมุนเหวี่ยงหลอดสลายตัว (LT) เป็นเวลา ≥5 วินาทีด้วยความเร็วเต็มที่เพื่อกำจัดหยดน้ำจากภายในฝา
6. เติมเอทานอล 200 µl (96–100%) ลงในหลอดสลายตัว (LT) ปิดฝา และผสมให้เข้ากันโดยใช้การปั่นแบบกระตุกเป็นเวลา ≥15 วินาที
7. หมุนเหวี่ยงหลอดสลายตัว (LT) เป็นเวลา ≥5 วินาทีด้วยความเร็วเต็มที่เพื่อกำจัดหยดน้ำจากภายในฝา
8. ใส่คอลัมน์สปิน QIAamp Mini ลงใน VacConnector (VC) ในระบบสุญญากาศ ตรวจสอบให้แน่ใจว่าวาล์วสุญญากาศหลัก (ระหว่างระบบสุญญากาศและสายยางสุญญากาศ) และวาล์วฝาเกลียว (บนสายยางสุญญากาศ) ปิดอยู่ เปิดปั๊มสุญญากาศ

   ถอดหลอดล้าง (WT) (2 ml) ที่คอลัมน์สปิน QIAamp Mini ที่วางอยู่ในบลิสเตอร์

   การดูดสุญญากาศจะใช้กับระบบเชื่อมต่อเท่านั้น (ถ้าใช้) ไม่ใช้กับสายยางสุญญากาศ
9. ใช้ไลเสตทั้งหมดจากขั้นตอน7 ไปยังคอลัมน์สปิน QIAamp Mini อย่างระมัดระวัง โดยไม่ทำให้ขอบเปียก หลีกเลี่ยงการสัมผัสเมมเบรนคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ด้วยหัวปิเปต

   หมายเหตุ: หากประมวลผลหลายตัวอย่าง ให้เปิดท่อสลายตัว (LT) ทีละหลอดเท่านั้น

10. เปิดวาล์วสุญญากาศหลัก หลังจากดึงไลเสตผ่านคอลัมน์สปิน QIAamp Mini แล้ว ให้ปิดวาล์วสุญญากาศหลัก และเปิดวาล์วฝาเกลียวบนสายยางสุญญากาศเพื่อระบายสายยาง ปิดวาล์วฝาเกลียวหลังจากปล่อยสุญญากาศออกจากสายยาง

    หลังจากปิดวาล์วสุญญากาศหลัก การดูดสุญญากาศจะถูกนำไปใช้กับระบบเชื่อมต่อเท่านั้น (ถ้าใช้) ไม่ใช่ที่สายยางสุญญากาศ

    หมายเหตุ: ใช้วาล์วฝาเกลียวของสายยางสุญญากาศเพื่อปล่อยสุญญากาศออกอย่างรวดเร็ว

    หมายเหตุ: หากประมวลผลคอลัมน์สปิน QIAamp Mini หลายคอลัมน์ในเวลาเดียวกัน เราขอแนะนำให้ปิด VacValve ของแต่ละคอลัมน์หลังจากไลเสตผ่านไป เพื่อลดระยะเวลาของขั้นตอนสุญญากาศ

    หมายเหตุ: หากไลเสตยังไม่ผ่านเมมเบรนอย่างสมบูรณ์หลังจากผ่านไป 10 นาที ให้วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ลงในท่อล้าง (WT) ที่สะอาด ปิดฝาและหมุนเหวี่ยงที่ 6,000 x *g* (8,000 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 3 นาทีหรือจนกว่าไลเสตจะผ่านไปอย่างสมบูรณ์ วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ลงในท่อซัก (WT) ที่สะอาดอีกอันหนึ่งแล้วทำตามขั้นตอน 10 ของเกณฑ์วิธีในหน้า 29

    หมายเหตุ: หากไลเสตยังไม่ผ่านเมมเบรนในระหว่างการหมุนเหวี่ยง ให้ทิ้งตัวอย่างและทำการแยกและทำให้บริสุทธิ์ซ้ำด้วยวัสดุตัวอย่างใหม่เริ่มตั้งแต่ขั้นตอนที่ 1 ในหน้า 28

11. ใส่บัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1) 750 µl ในคอลัมน์สปิน QIAamp Mini โดยไม่ทำให้ขอบเปียก หลีกเลี่ยงการสัมผัสเมมเบรนคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ด้วยหัวปิเปต เปิดฝาคอลัมน์ทิ้งไว้และเปิดวาล์วสุญญากาศหลัก หลังจากดึงบัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1) ผ่านคอลัมน์สปิน QIAamp Mini แล้ว ให้ปิดวาล์วสุญญากาศหลักและเปิดวาล์วฝาเกลียวเพื่อระบายสายยาง ปิดวาล์วฝาเกลียวหลังจากปล่อยสุญญากาศออกจากสายยาง

12. ใส่บัฟเฟอร์การล้าง 2 (AW2) 750 µl ในคอลัมน์สปิน QIAamp Mini โดยไม่ทำให้ขอบเปียก หลีกเลี่ยงการสัมผัสเมมเบรนคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ด้วยหัวปิเปต เปิดฝาคอลัมน์ทิ้งไว้และเปิดวาล์วสุญญากาศหลัก หลังจากดึงบัฟเฟอร์การล้าง 2 (AW2) ผ่านคอลัมน์สปิน QIAamp Mini แล้ว ให้ปิดวาล์วสุญญากาศหลักและเปิดวาล์วฝาเกลียวเพื่อระบายสายยาง ปิดวาล์วฝาเกลียวหลังจากปล่อยสุญญากาศออกจากสายยาง

13. ปิดฝาของคอลัมน์หมุน QIAamp Mini นำออกจากระบบสุญญากาศ และถอด VacConnector (VC) วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ลงในท่อล้าง (WT) ที่สะอาดและหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วเต็มที่ (ประมาณ 20,000 x *g* หรือ 14,000 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 3 นาทีเพื่อทำให้เมมเบรนแห้งสนิท

    หมายเหตุ: การละเว้นการหมุนเหวี่ยงแบบแห้งอาจนำไปสู่การยับยั้งในการทดสอบปลายน้ำ

14. วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ลงในหลอดชะล้าง (ET) ที่สะอาดและถอดหลอดล้าง (WT) ที่มีไส้กรอง เปิดฝาคอลัมน์สปิน QIAamp Mini อย่างระมัดระวังและใส่บัฟเฟอร์การชะล้าง (AE) 50 ถึง 200 µl ที่กึ่งกลางของเมมเบรน ปิดฝาแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 6,000 x *g* (8,000 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 1 นาทีเพื่อชะล้างดีเอ็นเอ

หมายเหตุ: ปฏิบัติตามขั้นตอนการบำรุงรักษาของระบบสูญญากาศหลังจากดำเนินการตามเกณฑ์วิธีนี้ (ดูรายละเอียดเพิ่มเติมจากคู่มือที่ให้มาพร้อมกับระบบสุญญากาศ)

เกณฑ์วิธี: การแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของ DNA จีโนมจากตัวอย่างเลือดโดยใช้เครื่องปั่นแยกขนาดเล็กหรือ QIAcube / QIAcube Connect MDx

สำหรับการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของ DNA จีโนมจากตัวอย่างเลือดทั้งหมด 200 µl ที่ได้รับจัดการด้วย EDTA หรือซิเตรตโดยใช้เครื่องปั่นแยกขนาดเล็กหรือการจัดการแบบอัตโนมัติบน QIAcube หรือ QIAcube Connect MDx

จุดสำคัญก่อนเริ่มงาน

- ขั้นตอนด้านล่างนี้ให้คำแนะนำสำหรับการประมวลผลตัวอย่างเลือดเดียว อย่างไรก็ตาม สามารถประมวลผลหลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน จำนวนขึ้นอยู่กับความจุของเครื่องปั่นแยกขนาดเล็กที่ใช้
- การประมวลผลอัตโนมัติ 2-10 หรือ 12 ตัวอย่าง สามารถทำได้บนเครื่องมือ QIAcube หรือ QIAcube Connect MDx
- สำหรับระบบอัตโนมัติ ให้ปฏิบัติตามคำแนะนำจากเอกสารเกณฑ์วิธี (QIAcube) หรือบนหน้าจอซอฟต์แวร์ (QIAcube Connect MDx) และคู่มือผู้ใช้ *QIAcube หรือ QIAcube Connect MDx*

สิ่งที่ต้องทำก่อนเริ่มต้นการทำงาน

- ปรับตัวอย่างเลือดให้อยู่ที่อุณหภูมิห้องและตรวจสอบให้แน่ใจว่าผสมเข้ากันดีแล้ว
- หากเกิดการตกตะกอนในบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) ให้ละลายโดยการบ่มที่อุณหภูมิ 56°C
- ตรวจสอบให้แน่ใจว่าบัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1), บัฟเฟอร์การล้าง 2 (AW2) และ QIAGEN Protease (QP) ได้รับการจัดเตรียมตามคำแนะนำใน "การเตรียมน้ำยาและบัฟเฟอร์" หน้า 18
- ปรับบัฟเฟอร์ชะล้าง (AE) ให้อยู่ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ในขั้นตอน 15
- ตั้งค่าบล็อกทำความร้อนที่ 56°C เพื่อใช้ในขั้นตอน 4
- ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพที่ QIAGEN ใช้ทดสอบการปล่อยชุดการทำงานสำหรับชุดอุปกรณ์แต่ละล็อต ดังนั้น อย่าผสมน้ำยาจากชุดคิทที่ล็อตแตกต่างกัน และอย่ารวมน้ำยาแต่ละตัวจากล็อตน้ำยาที่แตกต่างกัน

กระบวนการ

- ทำตามขั้นตอน 1-15 สำหรับกระบวนการแบบแมนนวลด้วยเครื่องปั่นแยกขนาดเล็ก
- ขั้นตอนนี้สามารถทำได้โดยอัตโนมัติ 3 แบบแตกต่างกัน:
  - ปริมาตรการชะ: ระบบอัตโนมัติเต็มรูปแบบ 100 µl พร้อมปริมาตรการชะล้าง 100 µl (เริ่มจากขั้นตอนที่ 1)
  - ปริมาตรการชะ: ระบบอัตโนมัติเต็มรูปแบบ 200 µl พร้อมปริมาตรการชะล้าง 200 µl (เริ่มจากขั้นตอนที่ 1)
  - การสลายแบบแมนนวล: บางส่วนทำงานโดยอัตโนมัติด้วยการสลายแบบแมนนวลนอกบอร์ด (เริ่มต้นหลังจากขั้นตอน 5)

1. ใช้ปิเปตดูด QIAGEN Protease (QP) 20 µl ลงในหลอดสลายตัว (LT)

   หมายเหตุ: ตรวจสอบวันหมดอายุของโปรตีเอสที่สร้างขึ้นใหม่ก่อนใช้

2. ใส่ตัวอย่างเลือด 200 µl ลงในหลอดสลายตัว (LT)
3. เติมบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) 200 µl ลงในหลอดสลายตัว (LT) ปิดฝาและผสมด้วยการปั่นแบบกระตุก-เป็นเวลา 15 วินาที

   เพื่อให้แน่ใจว่าการสลายมีประสิทธิภาพ จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องผสมตัวอย่างและบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) ให้เข้ากันอย่างทั่วถึงเพื่อให้ได้สารละลายที่เป็นเนื้อเดียวกัน

   หมายเหตุ: เนื่องจากบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) มีความหนืดสูง ต้องแน่ใจว่าเติมบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) ในปริมาตรที่ถูกต้องโดยการหยดด้วยปิเปตอย่างระมัดระวังหรือโดยใช้ปิเปตที่เหมาะสม

   หมายเหตุ: ห้ามเติม QIAGEN Protease (QP) ลงในบัฟเฟอร์การสลายตัว (AL) โดยตรง
4. บ่มที่ 56°C (± 1°C) เป็นเวลา 10 นาที (± 1 นาที)
5. หมุนเหวี่ยงหลอดสลายตัว (LT) เป็นเวลา ≥5 วินาทีด้วยความเร็วเต็มที่เพื่อกำจัดหยดน้ำจากภายในฝา

   หมายเหตุ: หากการสลายแบบแมนนวล (ขั้นตอน 1- 5) ทำนอกบอร์ด สามารถทำขั้นตอนต่อไปนี้ (ขั้นตอน 6-15) ได้โดยอัตโนมัติบน QIAcube หรือ QIAcube Connect MDx โดยใช้เกณฑ์วิธีสำหรับการสลายแบบแมนนวล
6. เติมเอทานอล 200 µl (96–100%) ลงในหลอดสลายตัว (LT) ปิดฝา และผสมให้เข้ากันโดยใช้การปั่นแบบกระตุกเป็นเวลา ≥15 วินาที

7. หมุนเหวี่ยงหลอดสลายตัว (LT) เป็นเวลา ≥5 วินาทีด้วยความเร็วเต็มที่เพื่อกำจัดหยดน้ำจากภายในฝา
8. ใช้ไลเสตทั้งหมดจากขั้นตอนที่ 7 ไปยังคอลัมน์สปิน QIAamp Mini อย่างระมัดระวัง โดยไม่ทำให้ขอบเปียก หลีกเลี่ยงการสัมผัสเมมเบรนคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ด้วยหัวปิเปต

   หมายเหตุ: หากประมวลผลหลายตัวอย่าง ให้เปิดท่อสลายตัว (LT) ทีละหลอดเท่านั้น
9. ปิดฝาคอลัมน์สปิน QIAamp Mini และหมุนเหวี่ยงที่ประมาณ 6,000 x *g* เป็นเวลา 1 นาที วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ลงในหลอดล้าง (WT) ที่สะอาดและทิ้งหลอดที่มีไส้กรอง

   หมายเหตุ: หากไลเสตไม่ผ่านเมมเบรนอย่างสมบูรณ์หลังจากการหมุนเหวี่ยงที่ 6,000 x *g* (8,000 รอบต่อนาที), หมุนเหวี่ยงอีกครั้งด้วยความเร็วสูงสุด (ไม่เกิน 20,800 x *g*) เป็นเวลา 1 นาที

   หมายเหตุ: หากไลเสตยังไม่ผ่านเมมเบรนในระหว่างการหมุนเหวี่ยง ให้ทิ้งตัวอย่างและทำการแยกและทำให้บริสุทธิ์ซ้ำด้วยวัสดุตัวอย่างใหม่เริ่มตั้งแต่ขั้นตอนที่ 1 ในหน้า 28
10. เปิดคอลัมน์สปิน QIAamp Mini อย่างระมัดระวังและเติมบัฟเฟอร์การล้าง 1 (AW1) 500 µl โดยไม่ทำให้ขอบเปียก หลีกเลี่ยงการสัมผัสเมมเบรนคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ด้วยหัวปิเปต
11. ปิดฝาคอลัมน์สปิน QIAamp Mini และหมุนเหวี่ยงที่ประมาณ 6,000 x *g* เป็นเวลา 1 นาที วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ลงในหลอดล้าง (WT) ที่สะอาดและทิ้งหลอดที่มีไส้กรอง
12. เปิดคอลัมน์สปิน QIAamp Mini อย่างระมัดระวังและเติมบัฟเฟอร์การล้าง 2 (AW2) 500 µl โดยไม่ทำให้ขอบเปียก หลีกเลี่ยงการสัมผัสเมมเบรนคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ด้วยหัวปิเปต
13. ปิดฝาคอลัมน์สปิน QIAamp Mini และหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วสูงสุด (ประมาณ 20,000 x *g* หรือ 14,000 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 1 นาที วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ลงในหลอดล้าง (WT) ที่สะอาดและทิ้งหลอดที่มีไส้กรอง
14. หมุนเหวี่ยงที่ความเร็วสูงสุด (ประมาณ 20,000 x *g* หรือ 14,000 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้เมมเบรนแห้งสนิท

   หมายเหตุ: การละเว้นการหมุนเหวี่ยงแบบแห้งอาจนำไปสู่การยับยั้งในการทดสอบปลายน้ำ
15. วางคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ลงในหลอดชะล้าง (ET) ที่สะอาดและถอดหลอดล้าง (WT) ที่มีไส้กรอง เปิดฝาคอลัมน์สปิน QIAamp Mini อย่างระมัดระวังและใส่บัฟเฟอร์การชะล้าง (AE) 50 ถึง 200 µl ที่กึ่งกลางของเมมเบรน ปิดฝาแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ประมาณ 6,000 x *g* (8,000 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 1 นาทีเพื่อชะล้าง DNA

   หมายเหตุสำคัญ: ในกรณีของขั้นตอนแบบอัตโนมัติทั้งหมด ให้นำสารละลายของเหลวที่เกิดจากการชะล้างออกจากเครื่องมือโดยตรงหลังจากทำงานเสร็จแล้วและจัดเก็บอย่างเหมาะสม

การควบคุมคุณภาพ

ตามระบบการบริหารคุณภาพที่ผ่านการรับรอง ISO ของ QIAGEN ชุดทดสอบ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit แต่ละล็อตนั้นได้ผ่านการทดสอบตามข้อกำหนดเฉพาะที่กำหนดไว้ล่วงหน้าเพื่อให้มั่นใจในความสม่ำเสมอของคุณภาพผลิตภัณฑ์

ข้อจำกัด

ประสิทธิภาพของระบบกำหนดขึ้นโดยใช้เลือดครบส่วนในการแยก DNA จีโนม

เป็นความรับผิดชอบของผู้ใช้ในการตรวจสอบประสิทธิภาพของระบบสำหรับขั้นตอนใด ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการของตนซึ่งไม่ครอบคลุมในการศึกษาประสิทธิภาพของ QIAGEN

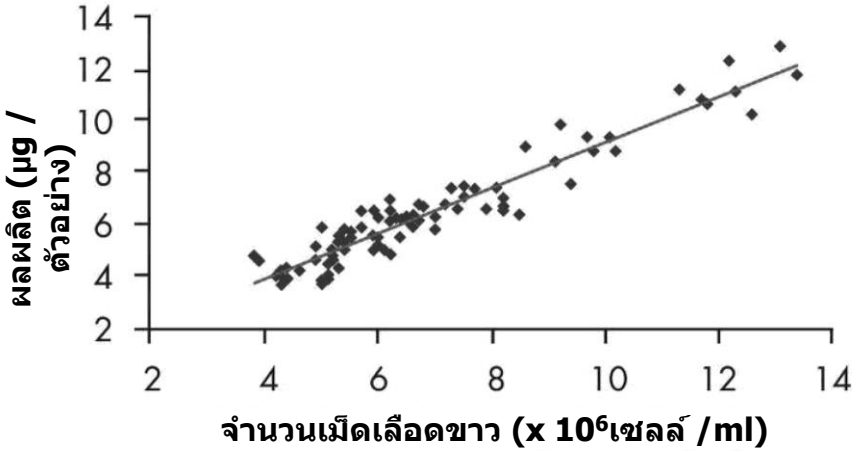
เพื่อลดความเสี่ยงของผลกระทบด้านลบต่อผลการวินิจฉัยให้เหลือน้อยที่สุด ควรใช้การควบคุมที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานปลายน้ำ สำหรับการตรวจสอบเพิ่มเติม International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) ใน ICH Q2 (R1) ขอแนะนาให้ใช้ Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology

ผลการวินิจฉัยใด ๆ ที่สร้างขึ้นจะต้องตีความร่วมกับผลการวิจัยทางคลินิกหรือห้องปฏิบัติการอื่น ๆ

คุณลักษณะสมรรถนะ

ผลผลิต DNA บริสุทธิ์

ช่วงเส้นตรงของผลผลิต DNA โดยใช้ขั้นตอนสุญญากาศ QIAamp DSP DNA Blood Mini กำหนดโดยเลือดจากผู้บริจาคที่มีสุขภาพดี ซึ่งมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 3.8 x 10^6 - 1.34 x 10^7 เซลล์ /ml (ดู ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ช่วงผลผลิต DNA เชิงเส้นโดยใช้ขั้นตอนสุญญากาศ QIAamp DSP DNA Blood Mini ที่มีปริมาตรการชะล้าง 200 µl จำนวนเม็ดเลือดขาวของผู้บริจาคที่มีสุขภาพดีถูกกำหนดค่าไว้และอยู่ในช่วง 3.8 x 10^6 - 1.34 x 10^7 เซลล์ /ml DNA ถูกทำให้บริสุทธิ์จากตัวอย่างเลือดโดยใช้กระบวนการสุญญากาศ QIAamp DSP DNA Blood Mini ที่มีปริมาตรการชะล้าง 200 µl ทำการประมวลผลตัวอย่างแปดสิบเจ็ดตัวอย่างที่ทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

ประสิทธิภาพในการทดสอบขั้นปลายน้ำ

DNA ที่ผ่านการชะล้างออกมาพร้อมสำหรับการใช้ในการตรวจปลายน้ำต่าง ๆ รวมถึงการตรวจสอบปลายน้ำแบบต่าง ๆ สำหรับวินิจฉัยภายนอกร่างกาย (ตารางที่ 2 ถึงตารางที่ 6) ผลกระทบของปริมาณการชะล้างและปริมาณสารชะล้างที่ใช้ใน PCR ที่มีต่อประสิทธิภาพของ PCR ได้รับการพิจารณาแล้ว (ดูตารางที่ 7)

ตารางที่ 2 พิมพ์ HLA โดยใช้การตรวจสอบ SSP Dynal® AllSet+™ HLA-A "ความละเอียดต่ำ", HLA-B "ความละเอียดต่ำ", DR "ความละเอียดต่ำ" และ DQ "ความละเอียดต่ำ"

HLA โลคัส A		HLA โลคัส B		HLA โลคัส DR		HLA โลคัส DQ	
จีโนไทป์	หมายเลข	จีโนไทป์	หมายเลข	จีโนไทป์	หมายเลข	จีโนไทป์	หมายเลข
A2/A3	2	B51, B51/B13 หรือ B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 หรือ DR3 / DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 หรือ 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	อื่น ๆ	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
อื่น ๆ	0			DR15	1	อื่น ๆ	0
				DR1 / DR7	1		
				อื่น ๆ	0		

เลือดครบส่วนรวบรวมจากผู้บริจาคแต่ละรายและ DNA จีโนมถูกทำให้บริสุทธิ์จากเลือดครบส่วน 200 µl โดยใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ใช้การตรวจสอบ SSP Dynal *AllSet*+ (Thermo Fisher Scientific หรือบริษัทในเครือ) มีการระบุอัลลีลในตำแหน่งที่ระบุในจำนวนบุคคลที่ระบุ หมายเลข: จำนวนบุคคล

ตารางที่ 3 การตรวจสอบจีโนไทป์ Factor V Leiden (FV) โดยใช้ชุดตรวจจับการกลายพันธุ์ LightCycler® Factor V Leiden

จีโนไทป์	จำนวน
ชนิดปกติ	17
FV G16191 A heterozygous	13
FV G16191 A homozygous	0

เลือดครบส่วนรวบรวมจากผู้บริจาค 30 ราย และ DNA จีโนมถูกทำให้บริสุทธิ์จากเลือดครบส่วน 200 µl โดยใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit สถานะอัลลีลิกที่ตำแหน่ง FV G1691 A ถูกกำหนดโดยใช้ชุดตรวจจับการกลายพันธุ์ LightCycler Factor V Leiden (Roche Group)

ตารางที่ 4 การตรวจจีโนไทป์ Factor V Leiden (FV) โดยใช้ endpoint PCR และการวิเคราะห์ Pyrosequencing® ด้วย PSQ-96 SNP-Reagent Kit บน Pyrosequencing PSQ 96MA

จีโนไทป์	จำนวน
ชนิดปกติ	17
FV G16191 A heterozygous	13
FV G16191 A homozygous	0

เลือดครบส่วนรวบรวมจากผู้บริจาค 30 รายและ DNA จีโนมถูกทำให้บริสุทธิ์จากเลือดครบส่วน 200 µl โดยใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit สถานะอัลลีลิกที่ตำแหน่ง FV G1691 A ถูกกำหนดโดยใช้ endpoint PCR และการวิเคราะห์ Pyrosequencing ด้วย PSQ-96 SNP-Reagent Kit บน Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage)

ตารางที่ 5 การตรวจจีโนไทป์ Prothrombin (PT) โดยใช้ endpoint PCR และการวิเคราะห์ Pyrosequencing ด้วย PSQ-Q96 SNP Reagent Kit บน Pyrosequencing PSQ 96MA

จีโนไทป์	จำนวน
ชนิดปกติ	30
PT G20210A heterozygous	0
PT G20210A homozygous	0

เลือดครบส่วนรวบรวมจากผู้บริจาค 30 รายและ DNA จีโนมถูกทำให้บริสุทธิ์จากเลือดครบส่วน 200 µl โดยใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit สถานะอัลลีลิกที่ตำแหน่ง PT G20210A ถูกกำหนดโดยใช้ endpoint PCR และการวิเคราะห์ Pyrosequencing ด้วย PSQ-96 SNP-Reagent Kit บน Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage)

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ ApoE โพลิมอร์ฟิซึม T112C และ C158T โดยใช้ endpoint PCR ด้วยการจัดลำดับแอมพลิคอน โดยใช้ BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit และการแยกบน ABI PRISM®3100 Genetic Analyzer

จีโนไทป์	จำนวน
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
อื่น ๆ	0

เลือดครบส่วนรวบรวมจากผู้บริจาค 10 รายและ DNA จีโนมถูกทำให้บริสุทธิ์จากเลือดครบส่วน 200 µl โดยใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit การวิเคราะห์ ApoE โพลิมอร์ฟีซึม T112C และ C158T โดยใช้ endpoint PCR ด้วยการจัดลำดับแอมพลิคอนโดยใช้ BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit และการแยกบน ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific หรือบริษัทในเครือ)

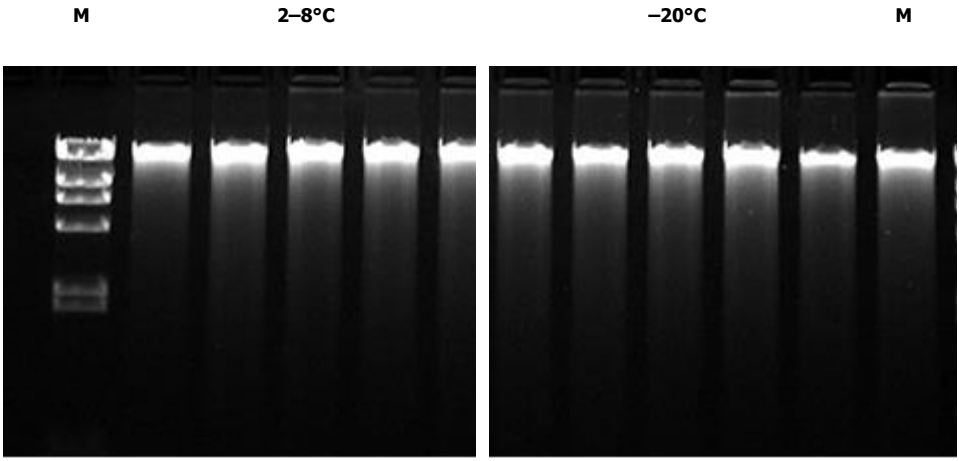
ตารางที่ 7 ผลกระทบของปริมาณการชะล้างและปริมาณการชะล้างที่ใช้ใน PCR ที่มีต่อประสิทธิภาพของ PCR

ปริมาตรการชะ	ปริมาตรชะต่อ PCR 50 µl *		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100%	100%	100%
100 µl	100%	100%	97%
200 µl	100%	100%	100%

*ค่าจะแสดงอัตราการ PCR ได้ผลและแสดงค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 48 ตัวอย่าง

ความคงตัวในการชะล้าง

ในการทดสอบการจัดเก็บด้วยตะกอนชะที่สร้างขึ้นโดยใช้ QIAamp DNA Blood Mini Kit ซึ่งเป็นชุดใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไปโดยใช้เทคโนโลยีที่เหมือนกัน พบว่า DNA ที่แยกออกจาก QIAamp Mini Spin Columns ใน Buffer AE มีความคงตัวเป็นเวลา 8 ปีเมื่อเก็บไว้ที่ 2 ถึง 8°C หรือ −30 ถึง −15°C (ภาพที่ 7) อย่างไรก็ตาม การศึกษาระยะยาวเกี่ยวกับความคงตัวของสารชะล้างที่ได้จากการใช้ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit อยู่ระหว่างดำเนินการ



ภาพที่ 7 ความคงตัวในระยะยาวของ DNA ที่แยกและถูกทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์สปิน QIAamp Mini DNA ได้รับการทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ QIAamp DNA Blood Mini Kit ซึ่งชะล้างด้วย Buffer AE 200 µl และเก็บรักษาไว้ที่ 2–8°C หรือ –20°C เป็นเวลา 8 ปี ตัวอย่าง DNA ได้รับการวิเคราะห์บนเจลอะกาโรสที่ย้อมด้วยเอทิเดียม - โบรไมด์ M: มาร์กเกอร์

สัญลักษณ์

สัญลักษณ์ต่อไปนี้อาจปรากฏอยู่บนบรรจุภัณฑ์และฉลากกำกับ:

สัญลักษณ์	นิยามของสัญลักษณ์
<N>	ประกอบด้วยน้ำยาที่เพียงพอต่อ <N> ปฏิกิริยา
	ใช้ก่อน
IVD	อุปกรณ์การแพทย์สำหรับการวินิจฉัยนอกกาย
	เมื่อเดินทางมาถึง
	เปิดเมื่อได้รับการจัดส่ง; จัดเก็บคอลัมน์สปิน QIAamp Mini ที่ 2–8°C
REF	หมายเลขแค็ตตาล็อก
LOT	หมายเลขล็อต
MAT	หมายเลขวัสดุ (เช่น การติดฉลากส่วนประกอบ)
COMP	ส่วนประกอบ
CONT	ประกอบด้วย
NUM	จำนวน
GTIN	หมายเลขรายการการค้าทั่วโลก
Rn	R ใช้สำหรับการแก้ไขคำแนะนำการใช้งานและ n คือหมายเลขการแก้ไข
	ขีดจำกัดอุณหภูมิ

สัญลักษณ์	นิยามของสัญลักษณ์
	ผู้ผลิต
	อ่านคำแนะนำการใช้งานก่อนใช้
	ปริมาณ
	เขียนวันที่ปัจจุบันหลังจากเติมเอทานอลลงในขวด
	การเติม
	ไลโอฟิไลซ์
	สร้างใหม่ใน
	เอทานอล
	กวานีดีนไฮโดรคลอไรด์
	ซับทิลิซิน
	นำไปสู่
	อ่านคำแนะนำการใช้งานก่อนใช้
	หมายเหตุสำคัญ

ข้อมูลการสั่งซื้อ

ผลิตภัณฑ์	สารบัญ	หมายเลขแค็ตตาล็อก
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	สำหรับการเตรียมดีเอ็นเอ 50 ชุด: คอลัมน์สปิน QIAamp Mini, VacConnectors, QIAGEN Protease, น้ำยา, บัฟเฟอร์, และหลอดเก็บตัวอย่าง	61104
ผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้อง		
QIAcube Connect MDx*	เครื่องมือและการรับประกันชิ้นส่วนและการบริการ 1 ปี	9003070
อุปกรณ์เสริม		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	สายยางสุญญากาศสำหรับการประมวลผลคอลัมน์หมุน 1–24 คอลัมน์: สายยางสุญญากาศ QIAvac 24 Plus, ปลั๊ก Luer, ข้อต่อสวมเร็ว	19413
Vacuum Pump†	ปั๊มสุญญากาศสากล	84020
VacConnectors†	ขั้วต่อแบบใช้แล้วทิ้ง 500 ตัวสำหรับใช้กับคอลัมน์หมุน QIAamp บนขั้วต่อ luer	19407
Rotor Adapters	สำหรับ 240 ชุด: อะแดปเตอร์โรเตอร์แบบใช้แล้วทิ้ง 240 ตัวและหลอดชะล้าง (1.5 ml) 240 หลอด; สำหรับใช้กับ QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	ที่ยึดสำหรับอะแดปเตอร์โรเตอร์แบบใช้แล้วทิ้ง 12 ตัว; สำหรับใช้กับ QIAcube	990392
Sample Tubes CB	ท่อฝาเกลียวทรงกรวย 1,000 ท่อไม่มีฐานกระโปรง (2 ml) สำหรับใช้กับ QIAcube และ QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	สำหรับใส่ชั้นวางเครื่องปั่น QIAcube	9017854

ผลิตภัณฑ์	สารบัญ	หมายเลขแค็ตตาล็อก
Reagent Bottles, 30 ml	ขวดน้ำยา (30 ml) พร้อมฝา แพ็ค 6; สำหรับใช้กับ QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 µl	หัวฟิลเตอร์แบบใช้แล้วทิ้ง วางบนชั้น (8 x 128) สำหรับใช้กับ QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	หัวฟิลเตอร์แบบใช้แล้วทิ้ง ชนิด wide-bore วางบนชั้น (8 x 128); ไม่จำเป็นสำหรับทุกเกณฑ์วิธี สำหรับใช้กับ QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	หัวฟิลเตอร์แบบใช้แล้วทิ้ง วางบนชั้น (8 x 128) สำหรับใช้กับอุปกรณ์ QIAcube และ QIAsymphony SP/AS	990332

* QIAcube Connect MDx ไม่มีให้บริการในบางประเทศ สำหรับรายละเอียดเพิ่มเติม โปรดติดต่อฝ่ายบริการด้านเทคนิคของ QIAGEN

† สำหรับใช้กับเกณฑ์วิธีสุญญากาศ

สำหรับข้อมูลใบอนุญาตและข้อมูลปฏิเสธความรับผิดชอบจำเพาะผลิตภัณฑ์ที่เป็นปัจจุบัน โปรดดูคู่มือชุดอุปกรณ์ QIAGEN หรือคู่มือผู้ใช้งานที่เกี่ยวข้อง ท่านสามารถอ่านคู่มือชุดอุปกรณ์ QIAGEN และคู่มือผู้ใช้งานได้ที่ www.qiagen.com หรือสามารถขอได้จากแผนกบริการทางเทคนิคของ QIAGEN หรือผู้แทนจำหน่ายในประเทศของท่าน

ประวัติการแก้ไขเอกสาร

การแก้ไข	คำอธิบาย
R2, มกราคม 2021	การอัปเดตไปยัง การทำให้บริสุทธิ์โดยอัตโนมัติบน QIAcube / QIAcube Connect MDx, คำเตือนและข้อควรระวัง, และส่วน เกณฑ์วิธี: การแยกและการทำให้บริสุทธิ์ของ DNA จีโนมจากตัวอย่างเลือดโดยใช้เครื่องปั่นแยกขนาดเล็กหรือ QIAcube / QIAcube
	เพิ่มการอ้างอิงถึง QIAcube Connect MDx และอุปกรณ์เสริม
	ลบการอ้างอิงถึง CD ในส่วน ส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์
	การเปลี่ยนแปลงด้านบรรณาธิการและการจัดหน้า

หน้านี้ถูกทิ้งว่างไว้โดยเจตนา

หน้านี้ถูกทิ้งว่างไว้โดยเจตนา

ข้อตกลงการอนุญาตใช้สิทธิ์โดยจำกัดสำหรับ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

การใช้ผลิตภัณฑ์นี้แสดงว่าผู้ซื้อหรือผู้ใช้งานผลิตภัณฑ์ยอมรับข้อตกลงดังต่อไปนี้:

1. ผลิตภัณฑ์นี้จะใช้ได้ตามเกณฑ์วิธีที่ให้มากับผลิตภัณฑ์และคู่มือนี้ และสำหรับใช้ร่วมกับชิ้นส่วนประกอบที่มาพร้อมกับแผงนี้เท่านั้น QIAGEN ไม่ให้ใบอนุญาตภายใต้ทรัพย์สินทางปัญญาใดๆ ของบริษัทในการใช้หรือนำชิ้นส่วนอุปกรณ์ที่รวมอยู่ในชุดอุปกรณ์นี้ไปใช้ร่วมกับชิ้นส่วนอุปกรณ์ใดๆ ที่ไม่ได้รวมอยู่ในแผงอุปกรณ์นี้ เว้นเสียแต่ได้บรรยายไว้ในเกณฑ์วิธีที่ให้มากับผลิตภัณฑ์ คู่มือฉบับนี้ และเกณฑ์วิธีเพิ่มเติมต่างๆ ที่มีให้ไว้ที่ www.qiagen.com เกณฑ์วิธีเพิ่มเติมเหล่านี้บางเกณฑ์วิธี ผู้ใช้ของ QIAGEN จัดหาให้แก่ผู้ใช้ของ QIAGEN เกณฑ์วิธีเพิ่มเติมอาจไม่ได้รับการทดสอบอย่างครบถ้วนสมบูรณ์หรือได้รับการปรับให้เหมาะสมที่สุดโดย QIAGEN QIAGEN ไม่รับประกันและไม่รับรองว่าเกณฑ์วิธีเหล่านี้จะไม่ละเมิดสิทธิ์ของบุคคลอื่น

2. นอกเหนือจากใบอนุญาตที่ได้แจ้งไว้โดยแจ้งชัดแล้ว QIAGEN ไม่ให้การรับรองว่าชุดอุปกรณ์และ/หรือการใช้งานแผงอุปกรณ์จะไม่ละเมิดสิทธิ์ของบุคคลอื่น

3. แผงอุปกรณ์และชิ้นส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์ได้รับอนุญาตสำหรับการใช้งานครั้งเดียว และห้ามใช้ซ้ำ ทำใหม่ หรือขายซ้ำ

4. QIAGEN ปฏิเสธความรับผิดชอบในใบอนุญาตอื่นใด ทั้งที่แจ้งชัดหรือโดยนัยนอกเหนือจากที่ได้แจ้งไว้อย่างชัดแจ้ง

5. ผู้ซื้อหรือผู้ใช้แผงอุปกรณ์นี้ตกลงที่จะไม่นำหรืออนุญาตให้บุคคลอื่นใด ดำเนินการในขั้นตอนใด ๆ ที่อาจนำไปสู่หรืออำนวยความสะดวกให้เกิดการกระทำต้องห้ามที่แสดงไว้ข้างต้น QIAGEN อาจบังคับใช้ข้อห้ามของข้อตกลงการใช้สิทธิ์แบบจำกัดในศาลใด ๆ และพึงเรียกชดใช้ค่าใช้จ่ายในการสืบสวนและค่าศาลทั้งหมด รวมถึงค่าทนาย ในการกระทำใด ๆ เพื่อบังคับใช้ข้อตกลงการใช้สิทธิ์แบบจำกัดนี้ หรือสิทธิในทรัพย์สินทางปัญญาใด ๆ ของบริษัท ที่เกี่ยวข้องกับแผงอุปกรณ์นี้และ/หรือชิ้นส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์นี้

สำหรับเงื่อนไขการรับใบอนุญาตที่อัปเดตแล้ว ดู www.qiagen.com

เครื่องหมายการค้า: 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®, *AllSet*™, BigDye®, Dynal® (Thermo Fisher Scientific หรือบริษัทในเครือ) ชื่อและเครื่องหมายการค้าจดทะเบียน และข้อมูลอื่น ๆ ที่ใช้ในเอกสารฉบับนี้ แม้ว่าจะไม่ได้ทำเครื่องหมายโดยเฉพาะเจาะจงว่าเป็นเช่นนั้นก็ตาม มิได้ถือว่าไม่ได้รับการปกป้องตามกฎหมาย

01/2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 สงวนลิขสิทธิ์ QIAGEN

การสั่งซื้อผลิตภัณฑ์ **www.qiagen.com/shop** | ฝ่ายสนับสนุนทางเทคนิค **support.qiagen.com** เว็บไซต์ **www.qiagen.com**