

Февруари 2017 г.

Наръчник за QIAamp[®] DSP DNA FFPE Tissue Kit



Версия 1

IVD

За инвитро диагностика



REF

60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
ГЕРМАНИЯ

R3 **MAT**

1062689BG



Съдържание

Предназначение	5
Кратко изложение и обяснение	5
Принцип на процедурата	6
Предоставени материали	8
Съдържание на набора	8
Необходими, но непредоставени материали	9
Предупреждения и предпазни мерки	10
Съхранение и работа с реактиви	11
Съхранение и работа с проби	12
Процедура	13
Подготовка на буфери	14
Изходен материал.....	16
Процедура за работа, за да се избегне кръстосано замърсяване	16
Центрофугиране	17
Обработка на колонии QIAamp MinElute в микроцентрофуга	18
Елуиране на пречистена ДНК.....	18
Протокол: Изолиране на геномна ДНК от FFPE тъканни срезове	20
Контрол на качеството	24
Ограничения	24
Работни характеристики	25
Символи	25
Информация за контакт	26

Информация за поръчка	27
-----------------------------	----

Предназначение

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit представлява система, която използва технология с кварцова мембрана (технология QIAamp) за изолиране и пречистване на геномна ДНК от биологични проби, фиксирани с формалин, вградени в парафин (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE).

Продуктът е предназначен за използване от професионални потребители, като например техници и лекари, обучени в техниките на молекулярната биология за целите на инвитро диагностиката (In Vitro Diagnostic, IVD); той е предназначен за ръчна подготовка на пробите и не дава качествени и количествени резултати от тестове.

Кратко изложение и обяснение

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit се използва за пречистване на ДНК от FFPE тъканни срези. Той използва утвърдената технология QIAamp DNA Micro за пречистване на геномна и митохондриална ДНК от малки по обем или размер проби. Наборът съчетава възможностите на кварцова мембрана за избиращо свързване с възможностите за използване на различни обеми.

Условията за лизиране позволяват ефективно пречистване на геномна ДНК от FFPE тъканни срези, без да е необходимо инкубиране през нощта. Инкубирането при повишена температура след разграждането на протеиназа К частично премахва формалиновото omрежване на освободената ДНК, което потенциално подобрява добива, както и ефективността на ДНК при последващите анализи. Имайте предвид, че ДНК, изолирана от FFPE проби, обикновено е с по-ниско молекулно тегло от ДНК от пресни или замразени проби. Степента на фрагментация зависи от вида и възрастта на пробата и от условията, използвани за фиксиране.

След лизиране на алиquotната част простата процедура с QIAamp DSP DNA FFPE Tissue е подходяща за едновременна обработка на повече от една алиquotна част.

Потребителят носи отговорността да валидира работните характеристики на системата за всички процедури в неговата лаборатория, които не са включени в проучвания на работните характеристики на QIAGEN, описани в наръчника.

Принцип на процедурата

Процедурата QIAamp DSP DNA FFPE Tissue се състои от шест стъпки (Фигура 1):

- Отстраняване на парафина: Парафинът се разтваря в ксилол и се отстранява
- Лизиране: Пробата се лизира при 56 °C в денатуриращи условия с протеиназа K
- Нагряване: Инкубацията при 90 °C обръща омрежването на формалина
- Свързване: ДНК се свързва с мембраната и замърсителите преминават през нея
- Промиване: Остатъчните замърсители се отмиват
- Елуиране: Чиста, концентрирана ДНК се елуира от мембраната

Процедура на QIAamp DSP DNA FFPE Tissue



Фигура 1. Процедура на QIAamp DSP DNA FFPE Tissue.

Предоставени материали

Съдържание на набора

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit			(50)
Каталожен №			60404
Брой реакции			50
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (Колони QIAamp MinElute с епруветки за промиване)	COL	50
WT	Wash Tubes (Епруветки за промиване) (2 ml)	WASH TUBE	3 × 50
ET	Elution Tubes (Епруветки за елуиране) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
LT	Lysis Tubes (Епруветки за лизиране) (2 ml)	LYS TUBE	50
ATL	Tissue Lysis Buffer (Буфер за лизиране на тъкани)	TIS LYS BUF	10 ml
AL	Lysis Buffer (Лизиращ буфер)*	LYS BUF	12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Промиваш буфер 1)* (концентрат)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Промиваш буфер 2)† (концентрат)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
ATE	Elution Buffer (Буфер за елуиране)†	ELU BUF	12 ml
PK	Proteinase K (Протеиназа К)	PROTK	1,25 ml
–	Инструкции за употреба (наръчник)	H B	1

* Съдържа гуанидинова сол. Не е съвместим с дезинфектанти, съдържащи белина. Вижте страницата 10 за предупреждения и предпазни мерки.

† Съдържа натриев азид като консервант.

Необходими, но непредоставени материали

При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация се обърнете към съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheet, SDS), предоставени от доставчика на продукта.

Реактиви

- Ксилен
- Етанол (96 – 100%)*

Консумативи

- Ако е взето решение да не се използват епруветките, предоставени в набора, препоръчваме микроцентрифужни епруветки от 1,5 ml или 2 ml (за етапите на лизиране) и микроцентрифужни епруветки от 1,5 ml (за етапите на елуиране) (предлагат се от Eppendorf® [Safe-Lock: кат. № 022363204, САЩ; кат. № 0030 120.086, Европа] или Sarstedt [кат. № 72.690]). Препоръчваме епруветки без DNase/RNase, с конична форма и надеждно закрепени капаци.
- Пипети и крайници за пипети (за избягване на кръстосано замърсяване – силно препоръчваме крайници за пипети с аерозолни бариери)

Оборудване

- Термомиксер[†], нагреваем орбитален инкубатор, нагревателен блок или водна баня с възможност за инкубация при 56 °C, 70 °C и 90 °C
- Микроцентрифуга[†] с ротор за 2-ml епруветки
- Вортекс

* Не използвайте денатуриран спирт, който съдържа други вещества като метанол или метилетилкетон.

[†] За да се гарантира правилната обработка на пробите по процедурите QIAamp DSP DNA FFPE, настоятелно препоръчваме инструментите да са калибрирани в съответствие с инструкциите на производителя.

Предупреждения и предпазни мерки

За инвитро диагностика

При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheet, SDS). Тези листове са на разположение онлайн в удобен и компактен PDF формат на www.qiagen.com/safety, където можете да намерите, прегледате и разпечатате SDS за всеки набор на QIAGEN® и компонент на набора.



ВНИМАНИЕ: НЕ наливайте белина или киселинни разтвори направо в отпадъците от подготовката на пробите.

Buffer AL и Buffer AW1 съдържат гуанидин хидрохлорид, който може да образува силно реактивни съединения с белината.

Ако се разлее течност, съдържаща такива буфери, я почистете с подходящ лабораторен почистващ препарат и вода. Ако разлятата течност съдържа потенциално инфекциозни агенти, първо почистете замърсената област с лабораторен почистващ препарат и вода, а след това с 1% (по обем) натриев хипохлорит.

Следните предупреждения за опасност и предпазни мерки се отнасят за компонентите на QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit.

Buffer AL



Съдържа: гуанидин хидрохлорид; малеинова киселина. Предупреждение! Може да бъде вреден при поглъщане или вдишване. Предизвиква дразнене на кожата. Предизвиква сериозно дразнене на очите. Може да предизвика алергична реакция на кожата. Ако дразненето на очите продължава: Осигурете медицинска помощ. ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването. Съблечете замърсените дрехи и ги изперете, преди да се използват отново. ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: Измийте обилно със сапун и вода. При дразнене на кожата: Осигурете медицинска помощ. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

Buffer ATL



Предупреждение! Предизвиква леко дразнене на кожата. При дразнене на кожата: Осигурете медицинска помощ.

Buffer AW1



Съдържа: гуанидин хидрохлорид. Предупреждение! Вреден при поглъщане или вдишване. Предизвиква дразнене на кожата. Предизвиква сериозно дразнене на очите. Обадете се в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ или на лекар, ако почувствате неразположение. Съдържанието/съдът да се изхвърли в одобрено за целта съоръжение. Съблечете замърсените дрехи и ги изперете, преди да се използват отново. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

Proteinase K



Съдържа: Протеиназа К. Опасно! Предизвиква леко дразнене на кожата. При вдишване може да предизвика алергия, симптоми на астма или затруднено дишане. Избягвайте вдишване на прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли. Съдържанието/съдът да се изхвърли в одобрено за целта съоръжение. При симптоми на затруднено дишане: Свържете се с ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ или с лекар. ПРИ ВДИШВАНЕ: Ако дишането е затруднено, изведете пострадащото лице на чист въздух и го оставете в покой, в удобно за дишане положение. Носете дихателна защита.

Съхранение и работа с реактиви

Колоните QIAamp MinElute трябва да се съхраняват при 2 – 8 °C след пристигането им и могат да се използват до датата на изтичане на срока на годност, посочена върху кутията на набора.

Всички буфери могат да се съхраняват при стайна температура (15 – 25 °C) и са стабилни до датата на изтичане на срока на годност на набора. Въпреки това, разтворените Buffer AW1 и AW2 могат да се съхраняват при стайна температура (15 – 25 °C) до 1 година или до датата на изтичане на срока на годност на набора, в зависимост от това кой период е по-кратък.

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit съдържа готов за употреба разтвор на протеиназа К, който се доставя в специално разработен буфер за съхранение. Протеиназа К е годна до датата на изтичане на срока на годност на набора, когато се съхранява при стайна температура (15 – 25 °C).

Съхранение и работа с проби

Трябва да се използват стандартни процедури за фиксиране с формалин и за вграждане с парафин, за да се ограничи степента на фрагментация на ДНК, като:

- Фиксирайте тъканните проби във формалин съгласно лабораторния протокол (обикновено се приема 10% неутрален буфериран формалин) възможно най-бързо след хирургичното отстраняване.
- Използвайте време за фиксиране от 14 – 24 часа. Ограничете времето за фиксиране, тъй като продължителното фиксиране (например > 24 часа) може да доведе до по-силна фрагментация на ДНК, което ще влоши резултатите при последващите анализи.
- Преди вграждане извършете пълно дехидратиране на пробите (остатъчният формалин може да потисне разграждането с протеиназа К).

ДНК се елуира в Buffer ATE и е готова за употреба в реакции на амплификация или за съхранение (условията зависят от изискванията на потребителя). За препоръчителните условия на съхранение за конкретни приложения на QIAGEN надолу по веригата вижте съответните наръчници за наборите.

Процедура

Важни моменти преди започване

- Всички реактиви, доставени с набора QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit, са предназначени да бъдат използвани единствено с останалите реактиви в същия набор QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit. Не трябва да се правят замествания на реактивите в набора, ако трябва да се поддържат оптималните работни показатели.
- След получаването на набора проверете неговите компоненти за увреждания. Ако опаковките или шишетата с буфер са увредени, се обърнете към „Техническо обслужване“ или местния дистрибутор на QIAGEN. В случай на разливане на течност, направете справка със „Предупреждения и предпазни мерки“, страница 10. Не използвайте повредени компоненти на набора, тъй като тяхната употреба може да доведе до влошени работни характеристики на набора.
- Не използвайте компоненти от други набори с набора, който използвате в момента, освен ако номерата на партидите не са идентични.
- Не допускайте микробиологично замърсяване на реактивите на набора.
- Този набор трябва да се използва само от персонал със съответното обучение по лабораторната практика за инвитро диагностика.
- Винаги носете латексови или винилови ръкавици, когато работите с реактиви и аликвотни части, за да предотвратите замърсяване от повърхността на кожата или от прашно лабораторно оборудване. Бактерии и плесени може да има по ръцете и праховите частици и затова те са чести източници на замърсяване. Сменяйте често ръкавиците и дръжте епруветките затворени.
- Неизползваните буфери, промивки и остатъци от проби трябва да се изхвърлят в съответствие с местните процедури.

- Ако използвате собствена пластмасова посуда, по време на процедурата за пречистване се препоръчва използването на полипропиленови конични епруветки за еднократна употреба с обем 1,5 – 2 ml, без DNase/RNase, със слабо свързване и надеждно закрепени капаци.
- Извършвайте всички етапи на центрофугиране при стайна температура (15 – 25 °C).
- Всички буфери трябва да се съхраняват при стайна температура (15 – 25 °C) и да се разбъркат добре преди употреба.
- Настройте термомиксера или отопляемия орбитален инкубатор на 56 °C за употреба в стъпка 11. Ако не разполагате с термомиксер или отопляем орбитален инкубатор, вместо него може да се използва нагревателен блок или водна баня.
- Ако Buffer AL или Buffer ATL съдържа утайки, разтворете ги чрез нагряване до 70 °C с леко разбъркване.
- Уверете се, че Buffer AW1 и Buffer AW2 са приготвени в съответствие с инструкциите по-долу.
- Процедурите за контрол на качеството в QIAGEN включват функционално тестване на пускането на набора за всяка отделна партида набори. Затова не смесвайте реактиви от различни партиди набори и не комбинирайте отделни реактиви от различни партиди на реактиви.

Подготовка на буфери

Подготовка на Buffer ATL

- Преди да започнете процедурата, проверете дали не се е образувал преципитат в Buffer ATL. Ако е необходимо, го разтворете с нагряване до 70 °C с леко разбъркване.

Подготовка на Buffer AL

- Преди да започнете процедурата, проверете дали в Buffer AL се е образувала утайка. Ако е необходимо, го разтворете с нагряване до 70 °C с леко разбъркване.

Подготовка на Buffer AW1

- Добавете 25 ml етанол (96 – 100%) към бутилката, съдържаща 19 ml концентриран Buffer AW1. Поставете отметка на етикета на шишето, за да отбележите, че е прибавен етанол. Разтвореният Buffer AW1 може да се съхранява при стайна температура (15 – 25 °C) в продължение на до 1 година или до изтичане на срока на годност на набора, в зависимост от това кой период е по-кратък. Препоръчваме да напишете датата на разтваряне върху етикета на буфера.

Забележка: Преди да започнете процедурата, разбъркайте разтворения Buffer AW1 чрез разклащане.

Подготовка на Buffer AW2

- Добавете 30 ml етанол (96 – 100%) към бутилката, съдържаща 13 ml концентриран Buffer AW2. Поставете отметка на етикета на шишето, за да отбележите, че е прибавен етанол. Разтвореният Buffer AW2 може да бъде съхраняван при стайна температура (15 – 25 °C) в продължение на до 1 година или до изтичане на срока на годност, в зависимост от това кой период е по-кратък. Препоръчваме да напишете датата на разтваряне върху етикета на буфера.

Забележка: Преди да започнете процедурата, разбъркайте разтворения Buffer AW2 чрез разклащане.

Изходен материал

Изходният материал за пречистване на ДНК са FFPE тъканни срези (в идеалния случай прясно изрязани). Няколко среза могат да се комбинират в един препарат. Ако нямате информация за естеството на изходния материал, препоръчваме да започнете с не повече от три секции за един препарат.

Потребителят трябва да оптимизира броя на срезите, дебелината на срезите и площта на срезите за всички процедури, използвани в лабораторията. Ако наборът се използва във връзка с приложение на QIAGEN надолу по веригата, вижте инструкциите в съответния наръчник.

Процедура за работа, за да се избегне кръстосано замърсяване

Поради чувствителността на технологиите за амплификация на нуклеинови киселини трябва да се вземат следните предпазни мерки, когато се работи с колони QIAamp MinElute, за да се предотврати кръстосано замърсяване между различните аликвотни части:

- Не препълвайте епруветките с тъкан.
- Сменяйте скалпелите между пробите, когато остъргвате тъканта.
- Накапвайте внимателно аликвотната част или разтвора в колоната QIAamp MinElute. Пипетиране на аликвотната част в колоната QIAamp MinElute, без да мокрите ръба на колоната.
- Винаги заменяйте крайниците на пипетите между пренос на течности. Препоръчваме да използвате крайници за пипети с аерозолна бариера.
- Винаги използвайте нови епруветки за промиване, когато извършвате стъпки за промиване на пробите.
- Уверете се, че капачките на епруветките са напълно затворени, преди да ги разбъркате и центрофугирате.

- Уверете се, че колоната QIAamp MinElute е напълно затворена преди центрофугиране.
- След всички стъпки за импулсно разбъркване на вортекса и инкубационните стъпки при 90 °C центрофугирайте кратко време всички епруветки в микроцентрофугата, за да изчистите капките от вътрешната част на капациите.
- Не отваряйте повече от една колона QIAamp MinElute едновременно и внимавайте, за да предотвратите отделяне на аерозоли.
- Винаги сменяйте скалпелите между пробите.
- Винаги заменяйте накрайниците на пипетите между пренос на течности. За свеждане на кръстосаното замърсяване до минимум препоръчваме използване на накрайници за пипети с аерозолна бариера и избягване употребата на многостепенни пипети.
- Винаги използвайте ръкавици за еднократна употреба и редовно проверявайте дали те не са замърсени с материал от пробата. Изхвърлете ръкавиците, ако подозирате, че са замърсени.
- Отваряйте само по една епруетка едновременно.

Центрофугиране

Колоните QIAamp MinElute се побират в повечето стандартни микроцентрофужни епруветки от 1,5 – 2 ml. Допълнителни епруветки за промиване от 2 ml се предлагат отделно (QIAGEN, кат. № 19201). Колоните QIAamp MinElute се центрофугират на около 6000 × g, за да се намали шумът от центрофугата. Центрофугирането с пълна скорост няма да подобри добива на ДНК. Въпреки това центрофугирането на колоните QIAamp MinElute на пълна скорост е необходимо в два етапа от процедурата: етапа на сухото центрофугиране след промиване на мембраните и етапа на елуиране. Центрофугиране на пълна скорост се изисква и за сваляне на пробата след обработката с ксилол и етаноловото промиване.

Всички стъпки за центрофугиране трябва да се извършват при стайна температура (15 – 25 °C). Ниската температура на центрофугиране може да доведе до неоптимална екстракция.

Обработка на колони QIAamp MinElute в микроцентрофуга

- Винаги затваряйте колоните QIAamp MinElute, преди да ги поставите в микроцентрофугата.
- Не допускайте докосване на мембраната на колоната QIAamp MinElute с крайника на пипетата.
- Остатъчните фракции може да съдържат опасни отпадъци и затова трябва да се депонират по съответния начин.
- За ефикасна паралелна обработка на повече от една аликвотна част препоръчваме да се зареди статив с епруветки за промиване, в който да се прехвърлят колоните QIAamp MinElute след центрофугирането. Използваните епруветки за промиване с остатъците може да се изхвърлят и новите епруветки за промиване с колоните QIAamp MinElute може да се поставят направо в микроцентрофугата.
- Уверете се, че по време на целия процес се поддържа пълна проследимост на пробата.

Елууване на пречистена ДНК

За приложения надолу по веригата, които изискват малки начални обеми (напр. някои PCR анализи), по-концентрираният елуат може да увеличи чувствителността на анализа, но може да доведе и до увеличаване на концентрацията на потенциални инхибитори.

Увеличаването на обема за елууване обаче ще намали концентрацията на ДНК в елуата.

Обемът на възстановения елуат може да бъде приблизително с 5 µl по-малък от обема на Buffer ATE, нанесен върху колоната QIAamp MinElute. Например при обем на елуиране от 20 µl се получава ≥ 15 µl елуат. Извлеченият обем на елуата зависи от характеристиките на аликвотната част.

Потребителят е отговорен за оптимизирането на обема на елуиране за всички процедури, използвани в неговата лаборатория. Направете справка с наръчниците на наборите за препоръчителните обеми на елуиране, необходими за специфични приложения на QIAGEN надолу по веригата.

Добивът може да се увеличи, ако колоната се инкубира с Buffer ATE при стайна температура, например 5 минути преди центрофугиране. Елуираната ДНК може да се събира в епруветките за елуиране с обем 1,5 ml (предоставени). Условието за съхранение на елуираната ДНК зависят от изискванията, определени от потребителя. Направете справка в наръчниците на наборите за препоръчителните условия на съхранение за специфични приложения на QIAGEN надолу по веригата.

Протокол: Изолиране на геномна ДНК от FFPE тъканни срезове

Процедура

1. С помощта на скалпел отрежете излишния парафин от блока с проби.
2. Изрежете срезите, като следвате стандартната лабораторна практика (вж. „Изоходен материал“, стр. 16). Потребителят трябва да оптимизира броя на срезите, дебелината на срезите и площта на срезите за всички процедури, използвани в лабораторията. Уверете се, че проследимостта на пробите е запазена по време на цялата процедура.
3. Незабавно изстържете тъканта от разрезите с помощта на стерилен скалпел в епруетка за лизиране (предоставена). Уверете се, че цялата налична тъкан е поставена в епруетката. Добавете 1 ml ксилол към пробата, затворете капака и извършете енергично вихрово разбъркване, докато парафинът се разтвори (напр. 10 сек.). Уверете се, че епруетката е напълно затворена, за да се избегне разливане на ксилол, кръстосано замърсяване между пробите и възможен контакт с ксилола.

Забележка: Използвайте ксилол в аспиратори или други подходящи уреди за изолиране.

4. Центрофугирайте с пълна скорост за около 2 минути при стайна температура, за да съберете тъканната утайка. Ако не се образува тъканна утайка, повторете тази стъпка.

Забележка: Ниската температура на центрофугиране може да доведе до неоптимална екстракция.

5. Отстранете супернатантата с пипета и я изхвърлете. Запазете утайката. Супернатантата съдържа ксилол, който е опасен отпадък и трябва да се изхвърли по подходящ начин, съгласно местните разпоредби.

6. Добавете 1 ml етанол (96 – 100%) към тъканната утайка и извършете щателно вихрово разбъркване.

Етанолът извлича остатъчния ксилол от пробата и трябва да се изхвърли по подходящ начин.

7. Центрофугирайте при пълна скорост в продължение на приблизително 2 минути при стайна температура.

Отстранете супернатанта чрез пипетиране. Не отстранявайте нито една от утайките.

Внимателно отстранете остатъчния етанол, като използвате фин накрайник за пипета. Отворете епруветката и инкубирайте при 15 – 40 °C, докато се изпари целият остатъчен етанол. Отстраняването на остатъчния етанол е от решаващо значение за успеха на екстракцията.

Забележка: По-ниската температура на инкубация забавя времето на изпаряване, докато по-високата температура може да доведе до пресушаване на утайката, което затруднява суспендирането ѝ.

8. Отново суспендирайте утайката в 180 µl Buffer ATL. Добавете 20 µl протеиназа K и извършете вихрово разбъркване.

Забележка: Утайката трябва да се ресуспендира добре в ATL буфера, за да се осигури максимално възстановяване на добива.

9. Инкубирайте при 56 °C ± 3 °C в продължение на приблизително 1 час (или докато пробата бъде напълно лизирана).

10. Инкубирайте при 90 °C ± 5 °C за 1 час ± 5 мин.

Инкубирането при 90 °C в Buffer ATL частично обръща формалдехидната модификация на нуклеиновите киселини. По-краткото време на инкубация или по-ниската температура на инкубация могат да повлияят на качеството и количеството на ДНК. При използване на само един нагревателен блок, след инкубиране при 56 °C, оставете пробата на стайна температура, докато нагревателният блок не достигне 90 °C.

11. Центрофугирайте кратко време епруветката, за да изчистите капките от вътрешната част на капака.

12. Добавете 200 µl Buffer AL към пробата и разбъркайте добре чрез вихрово разбъркване. След това добавете 200 µl етанол (96 – 100%) и отново разбъркайте добре чрез вортекс.

От съществено значение е пробата, Buffer AL и етанолът да се смесят незабавно и щателно чрез вихрово разбъркване или пипетиране, за да се получи хомогенен разтвор. Buffer AL и етанолът могат да се смесят предварително и да се добавят заедно в една стъпка, за да се спести време при обработката на множество проби. При добавянето на Buffer AL и етанол може да се образува бяла утайка. Тази утайка не пречи на процедурата QIAamp. Винаги използвайте прясна смес и я изхвърляйте веднага след употреба.

13. Центрофугирайте кратко време епруветката, за да изчистите капките от вътрешната част на капака.

14. Внимателно прехвърлете целия лизат в колоната QIAamp MinElute (в епруветка за промиване с обем 2 ml), без да навлажнявате ръба, затворете капака и центрофугирайте при приблизително $6000 \times g$ за ≥ 1 мин. Поставете колоната QIAamp MinElute в чиста промивна епруветка от 2 ml (предоставена) и изхвърлете промивната епруветка, съдържаща остатъка.

Ако лизатът не е преминал изцяло през мембраната след центрофугирането, центрофугирайте отново на по-високи обороти, докато колоната QIAamp MinElute се изпразни.

15. Внимателно отворете колоната QIAamp MinElute и прибавете 500 µl разтворен Buffer AW1, без да мокрите ръба. Затворете капака и центрофугирайте на около $6000 \times g$ за ≥ 1 мин. Поставете колоната QIAamp MinElute в чиста 2-ml епруветка за промиване и изхвърлете епруветката за промиване с остатъка.

16. Внимателно отворете колоната QIAamp MinElute и прибавете 500 μ l разтворен Buffer AW2, без да мокрите ръба. Затворете капака и центрофугирайте на около 6000 $\times g$ за ≥ 1 мин. Поставете колоната QIAamp MinElute в чиста 2-ml епруветка за промиване и изхвърлете епруветката за промиване с остатъка.

Трябва да се избягва контакт между колоната QIAamp MinElute и остатъка. Не забравяйте да балансирате ротора на центрофугата. Някои ротори на центрофуги може да вибрират при забавянето на оборотите, в резултат на което остатъкът с етанол може да влезе в контакт с колоната QIAamp MinElute. Внимавайте при изваждането на колоната QIAamp MinElute и епруветката за промиване от ротора, така че остатъкът да не влезе в контакт с колоната QIAamp MinElute.

17. Центрофугирайте на пълни обороти (около 20 000 $\times g$) в продължение на приблизително 3 мин, за да изсушите мембраната.

Пренасяне на етанол в елуата може да повлияе на някои приложения надолу по веригата.

18. Поставете колоната QIAamp MinElute в чиста 1,5-ml епруветка за елуиране (предоставена) и изхвърлете епруветката за промиване, съдържаща остатък. Внимателно отворете капака на колоната QIAamp MinElute и накапете 20 – 200 μ l Buffer ATE в центъра на мембраната.

ВАЖНО: Ако използвате малки елуиращи обеми ($< 50 \mu$ l), дозирайте Buffer ATE в центъра на мембраната, за да осигурите пълно елуиране на свързаната ДНК. Колоните QIAamp MinElute осигуряват гъвкавост при избора на елуиращ обем. Изберете обем в съответствие с изискванията на приложението надолу по веригата. Обемът на елуата ще бъде с около 5 μ l по-малък от обема на разтвора за елуиране, накапан в колоната.

19. Затворете капака и инкубирайте при стайна температура (15 – 25 $^{\circ}$ C) за поне 1 мин. Центрофугирайте на пълни обороти (около 20 000 $\times g$) за ≥ 1 мин.

Инкубирането на колоната QIAamp MinElute, заредена с Buffer ATE, за около 5 минути при стайна температура преди центрофугиране може да увеличи добива на ДНК.

Контрол на качеството

В съответствие със сертифицираната по ISO Система за управление на качеството на QIAGEN всяка производствена партида QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit се тества по предварително определени спецификации, за да се осигури постоянно качество на продуктите.

Ограничения

Ефективността на набора е установена при използване на фиксирани във формалин и вградени в парафин тъкани (FFPE тъкани) за изолиране на геномна ДНК.

Потребителят носи отговорността да валидира работните характеристики на системата за всички процедури в неговата лаборатория, които не са включени в проучвания на работните характеристики на QIAGEN, описани в наръчника.

За да се сведе до минимум рискът от отрицателно въздействие върху диагностичните резултати, трябва да се използват подходящи контроли за последващите приложения по веригата. За допълнително валидиране се препоръчва да се използват указанията на International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (Международната конференция за хармонизиране на техническите изисквания) (ICH) в ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (Валидиране на аналитични процедури: текст и методика).

Всички получени диагностични резултати трябва да се интерпретират заедно с другите клинични или лабораторни констатации.











При използване на набора QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit РНК може да бъде съпребриствена с ДНК, ако присъства в пробата.











Работни характеристики

Вижте www.qiagen.com/p/QIAamp-DSP-DNA-FFPE-Tissue-CE за работните характеристики на QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit.

СИМВОЛИ

Върху опаковката и етикетите може да са изобразени следните символи:

Символ	Описание на символа
 Σ <N>	Съдържа реактиви, достатъчни за <N> реакции
	Използвайте до
	Медицинско изделие за инвитро диагностика
	След получаване
	Каталожен номер
	Партиден номер
	Номер на материала
	Компоненти
	Съдържа
	Номер

Символ	Описание на символа
	Запишете днешната дата след прибавянето на етанол в шишето
	Етанол
	Добавяне
	Гуанидин хидрохлорид
	Малеинова киселина
	Глобален номер на търговска единица
	Ограничение на температурата
	Производител
	Направете справка с инструкциите за употреба
	Внимание

Информация за контакт

За техническа помощ и повече информация вижте нашия Център за техническа поддръжка на www.qiagen.com/Support, позвънете на телефон 00800-22-44-6000 или се свържете с един от отделите за техническа поддръжка на QIAGEN или с местен дистрибутор (вижте задната корица или посетете www.qiagen.com).

Информация за поръчка

Продукт	Съдържание	Кат. №
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit — за пречистване на геномна ДНК от тъкани, вградени в парафин		
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (50)	За 50 подготовки за ДНК: 50 колони QIAamp MinElute®, протеиназа К, буфери, епруветки за промиване (2 ml), епруветки за елуиране (1,5 ml), епруветки за лизиране (2 ml)	60404

За актуална информация относно лицензирането и заявления за освобождаване от отговорност за конкретни продукти вижте съответния наръчник или ръководство за потребителя на набора QIAGEN. Наръчниците и ръководствата за потребителя на набори QIAGEN са достъпни на адрес www.qiagen.com или могат да бъдат заявени от отдела за техническо обслужване на QIAGEN или местния ви дистрибутор.

Търговски марки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, MinElute® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG).

Ограничено лицензионно споразумение за Наръчника за QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit

Употребата на този продукт означава, че всеки купувач или потребител на продукта приема следните условия:

1. Продуктът може да се използва само по протоколите, предоставени с продукта и този наръчник, и само с компонентите, съдържащи се в набора. QIAGEN не предоставя лиценз по никакви права върху своята интелектуална собственост за употребата или включването на приложените компоненти на този набор с компоненти, които не са включени в този набор, освен както е описано в протоколите, предоставени с продукта, този наръчник и допълнителните протоколи, които могат да се изтеглят от адрес www.qiagen.com. Някои от тези допълнителни протоколи са предоставени от потребители на QIAGEN за потребители на QIAGEN. Тези протоколи не са тествани щателно или оптимизирани от QIAGEN. QIAGEN не дава гаранция за тях и не гарантира, че те не нарушават правата на трети страни.
2. Освен изрично посочените лицензи, QIAGEN не дава гаранция, че този набор и/или неговата употреба не нарушават правата на трети страни.
3. Този набор и неговите компоненти се лицензират за еднократна употреба и не могат да се използват повторно, обновяват или препродават.
4. QIAGEN изрично се освобождава от всички други лицензи, изрични или подразбиращи се, с изключение на изрично заявените.
5. Купувачът и потребителят на набора се съгласяват да не предприемат и да не позволяват на други лица да предприемат стъпки, които могат да улеснят или да доведат до някое от действията, забранени по-горе. QIAGEN може да прилага забраните в настоящото Ограничено лицензно споразумение във всеки съд и ще възстанови всички свои разходи за разследване и съдебни разноски, включително адвокатските хонорари, при всяко действие за прилагане на настоящото Ограничено лицензно споразумение или упражняване на всяко от своите права върху интелектуална собственост във връзка с набора и/или неговите компоненти.

За актуалните условия на лиценза вижте www.qiagen.com.

Фев-17 HB-0414-004 © 2017 QIAGEN, всички права запазени.

Поръчване www.qiagen.com/contact | Техническа поддръжка support.qiagen.com |
Уебсайт www.qiagen.com