

# Инструкции за употреба (наръчник) на QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA Blood Mini Kit



Версия 3

**IVD**

За инвитро диагностика

За употреба с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

**CE**

**REF**

61104



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ГЕРМАНИЯ

R1 **MAT**

1127543BG

# Съдържание

Предвидена употреба .....	4
Предвидени потребители .....	4
Описание и принцип на действие.....	5
Лизиране на кръвни клетки.....	5
Свързване на геномна ДНК с мембраната на колонката QIAamp Mini Spin Column.....	5
Отстраняване на остатъчни замърсители.....	6
Елуиране на чиста геномна ДНК.....	6
Практически добив и качество на геномната ДНК.....	7
Автоматизирано пречистване на QIAcube Connect MDx.....	7
Кратко изложение и обяснение .....	10
Предоставени материали .....	11
Съдържание на набора.....	11
Компоненти на набора .....	12
Необходими, но непредоставени материали.....	13
Допълнителни реактиви.....	13
Консумативи .....	13
Оборудване .....	13
Само за процедурата за изтегляне с вакуум.....	13
Само за автоматизираната процедура.....	14
Предупреждения и предпазни мерки .....	15
Информация за безопасността .....	15

Предпазни мерки .....	16
Обезвреждане на отпадъците .....	17
Съхранение и работа с реактиви .....	18
Стабилност при употреба .....	18
Вземане, съхранение и работа с проби .....	20
Важни бележки .....	22
Важни моменти преди започване на протокол .....	22
Подготовка на реактивите и буферите .....	23
Работа с колонки QIAamp Mini Spin Column .....	24
Подготовка на системата за изтегляне с вакуум QIAvac 24 Plus .....	25
Процедура .....	27
Протокол: Изолиране и пречистване на геномна ДНК от алиquotни части кръв с микроцентрифуга или автоматизирано пречистване на QIAcube Connect MDx .....	27
Протокол: Изолиране и пречистване на геномна ДНК от алиquotни части кръв със система за изтегляне с вакуум .....	32
Контрол на качеството .....	37
Ограничения .....	38
Работни характеристики .....	39
Ръководство за отстраняване на проблеми .....	40
Символи .....	44
Информация за поръчка .....	47
Хронология на редакциите на документа .....	50

## Предвидена употреба

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit представлява система, която използва технология с кварцова мембрана (технология QIAamp) за изолиране и пречистване на геномна ДНК от биологични проби.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit е предназначен за инвитро диагностика.

## Предвидени потребители

Изделието е предвидено за употреба от професионални потребители – например лаборанти и лекари, обучени в техниките на молекулярната биология.

# Описание и принцип на действие

Всяка процедура с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit включва 4 стъпки:

- Лизиране на клетките в алиquotната част от кръвната проба
- Свързване на геномната ДНК в клетъчния лизат с мембраната на колонката QIAamp Mini Spin Column
- Промиване на мембраната
- Елуиране на геномната ДНК от мембраната

Този наръчник съдържа протоколи за 2 различни процедури с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit: процедурата за центрофугиране, която изисква центрофуга или може да се автоматизира на QIAcube® Connect MDx (фигура 1), и процедурата за изтегляне с вакуум, която изисква центрофуга и система за изтегляне с вакуум (вижте диаграмата на страница 9).

## Лизиране на кръвни клетки

Алиquotните части се лизират в денатурирано състояние при повишени температури. Лизирането се извършва в присъствието на протеаза QIAGEN® (QP) и буфер за лизиране (AL).

## Свързване на геномна ДНК с мембраната на колонката QIAamp Mini Spin Column

Към лизатите първо се прибавя етанол, за да се оптимизира свързването на геномна ДНК с мембраната на колонката QIAamp Mini Spin Column. Всеки лизат след това се напва в колонка QIAamp Mini Spin Column и геномната ДНК се адсорбира на кварцовата мембрана, докато лизатът се изтегля под действието на вакуума или центробежната сила.

## Отстраняване на остатъчни замърсители

През това време геномната ДНК остава свързана с мембраната на колонката QIAamp Mini Spin Column, но замърсителите ефикасно се промиват с буферите – първо с промиващ буфер 1 (AW1) и след това с промиващ буфер 2 (AW2).

## Елууване на чиста геномна ДНК

Геномна ДНК се елуира от мембраната на колонката QIAamp Mini Spin Column с 50–200 µl буфер за елууване (AE). Елууваната ДНК е готова за употреба в различни по-нататъшни анализи, включително за инвитро диагностика. Буферът за елууване (AE) трябва да се темперира до стайна температура (15–25 °C), преди да се накапе в колонката.

Тъй като на мембраната на колонката остава известно количество буфер за елууване след центрофугирането, събраният обем елуат може да бъде по-малък от обема на буфера за елууване (AE), накапан в колонката. Извлеченият обем на елуата зависи от характеристиките на аликвотната част. Елууваната ДНК се събира в епруветки за елууване (ET) и може да се съхранява до 4 седмици при температура 2–8 °C. За по-продължително време препоръчваме да се съхранява при –20 °C.

**Забележка:** Стабилността на елуата много зависи от различни фактори и конкретното по-нататъшно приложение. Тя е оценена при употреба на QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit с примерни по-нататъшни приложения. Потребителят носи отговорността да прочете инструкциите за употреба на конкретното по-нататъшно приложение в неговата лаборатория и/или да валидира цялата процедура, за да установи подходящите условия на съхранение.

## Практически добив и качество на геномната ДНК

Практическият добив на ДНК зависи от аликвотната част и качеството на изходния материал. Елуирането на по-малки обеми повишава окончателната концентрация на ДНК в елуата, но леко намалява общия практически добив на ДНК. Препоръчваме да се използва обем за елуиране, подходящ за предвиденото по-нататъшно приложение.

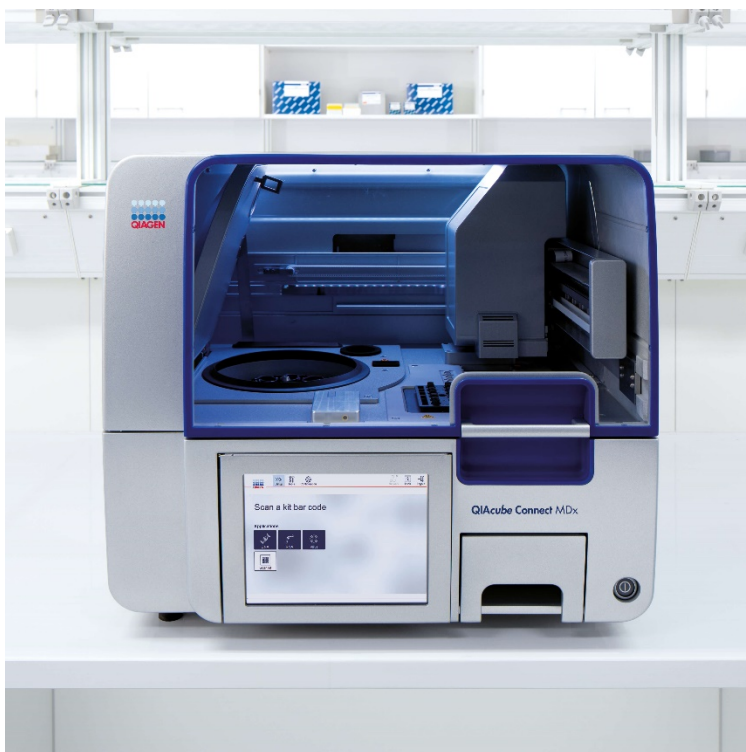
Практическият добив и качеството на изолираната геномна ДНК са подходящи за по-нататъшни молекулярно диагностични процедури за откриване – например с PCR. Диагностичните анализи трябва да се извършват по инструкциите на производителите.

## Автоматизирано пречистване на QIAcube Connect MDx

QIAcube Connect MDx извършва автоматизирано изолиране и пречистване на нуклеинови киселини. Може да се обработват до 12 аликвотни части на една серия.

При подготовката на аликвотните части с QIAcube Connect MDx се извършват същите стъпки като при ръчната процедура (тоест лизиране, свързване, промиване и елуиране) и затова можете да продължите да използвате QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit за пречистване на ДНК с високо качество.

При автоматизирана работа с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit на QIAcube Connect MDx апаратът може да обработи по-малко от 50 аликвотни части поради неизползваеми обеми, изпаряване и допълнителен разход на реактиви при автоматизираното пипетиране. QIAGEN гарантира само 50 подготовки на аликвотни части при ръчна употреба на QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



Фигура 1. Апаратът QIAcube Connect MDx.



## Процедури с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit за центрофугиране и изтегляне с вакуум

### Процедура за центрофугиране с QIAamp

Аликвотна част



### Процедура за изтегляне с вакуум с QIAamp

Аликвотна част



Прочетете внимателно протоколите (на страница 27 и 32), преди да започнете работа.

Прибавете 20 µl протеаза QP, 200 µl аликвотна част и 200 µl буфер AL в епруетка LT. Разбъркайте 15 s на вортекс. Инкубирайте 10 минути при 56 °C. Прибавете 200 µl етанол. Разбъркайте 15 s на вортекс.

Прехвърлете лизата в колонка QIAamp Mini Spin Column. Процедура за центрофугиране: Центрофугирайте 1 минута при 6000 x g.

Процедура за изтегляне с вакуум: Вакуумирайте.

Процедура за центрофугиране: Поставете колонка QIAamp Mini Spin Column в нова епруетка WT, прибавете 500 µl буфер AW1 и центрофугирайте 1 минута при 6000g.

Процедура за изтегляне с вакуум: Прибавете 750 µl буфер AW1 и вакуумирайте.

Процедура за центрофугиране: Поставете колонка QIAamp Mini Spin Column в нова епруетка WT, прибавете 500 µl буфер AW2 и центрофугирайте 1 минута на максимална скорост (около 20 000g или 14 000 оборота в минута).

Процедура за изтегляне с вакуум: Прибавете 750 µl буфер AW2 и вакуумирайте.

Поставете колонка QIAamp Mini Spin Column в епруетка WT.

Центрофугирайте 3 минути на максимална скорост (около 20 000 x g или 14 000 оборота в минута).

Поставете колонка QIAamp Mini Spin Column в епруетка ET.

Прибавете 50–200 µl буфер AE и инкубирайте 1 минута.

Центрофугирайте 1 минута при 6000 x g.

## Кратко изложение и обяснение

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit използва утвърдена технология за бързо и лесно изолиране и пречистване на геномна ДНК от 200 µl цяла кръв.

Процедурите с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit са предвидени за едновременна обработка на множество аликвотни части от кръвни проби и осигуряват готова за употреба пречистена ДНК. Процедурите са подходящи за работа с прясна или замразена цяла кръв и кръв, обработена с цитрат или EDTA.

Предварително отделяне на левкоцитите не е необходимо. Процедурите не изискват нито извличане с фенол или хлороформ, нито утаяване със спирт. Те изискват минимална намеса от потребителя за безопасна работа с потенциално инфекциозни аликвотни части. Процедурите са предвидени за свеждане на евентуалното кръстосано замърсяване между различните аликвотни части до минимум. Пречистената ДНК е готова за употреба в анализи с PCR или други приложения, а също така може да се съхранява продължително време при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Простите процедури с QIAamp DSP за центрофугиране и изтегляне с вакуум са подходящи за едновременна обработка на повече от една аликвотна част. Някои процедури с QIAamp за центрофугиране може напълно да се автоматизират на QIAcube Connect MDx за по-добро стандартизиране и улеснение (страница 7).

За процедурата за изтегляне с вакуум по протокола са необходими вакуумен колектор (например QIAvac 24 Plus с QIAvac Connecting System) и вакуумна помпа, която може да създава вакуум при около 800–900 mbar (например QIAGEN Vacuum Pump). Vacuum Regulator (част от QIAvac Connecting System) трябва да се използва за удобен контрол на налягането и девакуумиране.

# Предоставени материали

## Съдържание на набора




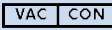
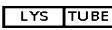

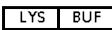


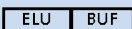



### QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Каталожен №

61104

Брой подготовки

50

	Наименование	Символи	Количество
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (Центрофугиращи колони QIAamp Mini с епруветки за промиване) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Епруветките за елуиране) (1,5 ml)	 	50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (Епруветки за лизиране) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Епруветки за промиване) (2 ml)		3 × 50
AL	Lysis Buffer* (Буфер за лизиране)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 <sup>†</sup> (Промивач буфер 1) (концентрат)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 <sup>‡</sup> (Промивач буфер 2) (концентрат)		13 ml
AE	Elution Buffer <sup>‡</sup> (Буфер за елуиране))		25 ml
PS	Protease Solvent <sup>‡</sup> (протеазен разтворител)		2 ml
QP	QIAGEN Protease <sup>§</sup>		1 шише
-	Инструкции за употреба (наръчник)		1

\* При автоматизирана работа с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit на апарат QIAcube Connect MDx, апаратът може да обработи по-малко от 50 аликвотни части поради неизползваеми обеми, изпаряване и допълнителен разход на реактиви при автоматизираното пипетиране. QIAGEN гарантира само 50 подготовки на аликвотни части при ръчна употреба на QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

<sup>†</sup> Съдържа гуанидин хидрохлорид. Не е съвместим с дезинфектанти, съдържащи белина. Повече информация ще намерите в раздел Информация за безопасността на страница 15.

<sup>‡</sup> Съдържа натриев азид като консервант.

<sup>§</sup> Обем на ресуспендиране 1,2 ml. Вижте „Подготовка на реактивите и буферите“ на страница 23.

## Компоненти на набора

По-долу са описани основните компоненти на набора, съдържащи активни съставки.

Реактив	Активни съставки	Концентрация (по тегло), [%]
QIAGEN Protease	Субтилизин	$\geq 0$ до $\leq 100$
AL	Гуанидин хидрохлорид Малеинова киселина	$\geq 30$ до $< 50$ $\geq 0,1$ до $< 1$
AW1	Гуанидин хидрохлорид	$\geq 50$ до $< 70$

# Необходими, но непредоставени материали

## Допълнителни реактиви

- Етанол (96–100%)\*

## Консумативи

- Пипети<sup>†</sup> и връхчета за пипети (силно препоръчваме да се използват връхчета за пипети с аерозолни бариери, за да се предотврати кръстосано замърсяване)
- Ръкавици за еднократна употреба

## Оборудване

- Нагревателен блок<sup>†</sup> за лизиране на аликвотни части при 56 °С (за микропруветки 1,5 ml)
- Микроцентрифуга<sup>†</sup>
- Мензура (50 ml)
- Вортекс

## Само за процедурата за изтегляне с вакуум

- Система за изтегляне с вакуум QIAvac 24 Plus (каталожен № 19413) или еквивалентна<sup>†</sup>
- VacValves (каталожен № 19408)
- QIAvac Connecting System (каталожен № 19419)
- Vacuum Pump (каталожен № 84020)
- Vacuum Regulator (каталожен № 19530)

\* Не използвайте денатуриран спирт, който съдържа други вещества – например метанол или метилетилкетон.

<sup>†</sup> За правилна обработка на аликвотните части при процедурите с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit силно препоръчваме инструментите (например пипетите и нагревателните блокове) да се калибрират по препоръките на техните производители.

## Само за автоматизираната процедура

- Апарат QIAcube Connect MDx (каталожен № 9003070)\*
- Rotor Adapters (каталожен № 990394)
- Rotor Adapter Holder (каталожен № 990392)
- Sample Tubes CB (каталожен № 990382 – епруветки за въвеждане на аликвотни части)
- Shaker Rack Plugs (каталожен № 9017854)
- Reagent Bottles, 30 ml (каталожен № 990393)
- Filter Tips, 1000 µl (каталожен № 990352)
- Filter Tips, 200 µl (каталожен № 990332)
- SafeSeal Tube, 1,5 ml (Sarstedt®, каталожен № 72.706)

\* За правилна обработка на аликвотните части при процедурите с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit силно препоръчваме инструментите (например пипетите и нагревателните блокове) да се калибрират по препоръките на техните производители.

## Предупреждения и предпазни мерки


Имайте предвид, че може да носите задължение да прочетете местните разпоредби за докладване на сериозни инциденти, възникнали във връзка с изделието, на производителя и/или неговия упълномощен представител и на регулаторния орган в страната по местожителство на потребителя и/или пациента.

За инвитро диагностика.

Прочетете внимателно всички инструкции, преди да използвате набора.

### Информация за безопасността

Когато работите с химикали, винаги носете подходящо лабораторно облекло, ръкавици за еднократна употреба и предпазни средства за очите. Повече информация ще намерите в съответните информационни листове за безопасност (ИЛБ). Тези листове са на разположение онлайн в удобен и компактен PDF формат на адрес [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), където можете да намерите, прегледате и разпечатате ИЛБ за всеки набор и компонент от набор QIAGEN.

<p><b>ВНИМАНИЕ</b></p> 	<p>НЕ наливайте белина или киселинни разтвори направо в отпадъците от подготовката на аликвотните части.</p>
--	--

- Буферът за лизиране (AL) и промиващият буфер 1 (AW1) съдържат гуанидин хидрохлорид, който може да образува силно реактивни съединения с белината. Ако се разлиее течност, съдържаща такива буфери, я почистете с подходящ лабораторен детергент и вода. Ако разлятата течност съдържа потенциално инфекциозни агенти, първо почистете замърсената област с лабораторен детергент и вода, а след това с 1% (по обем) натриев хипохлорит. Ако шишетата с буфер са повредени или протекли, носете ръкавици и предпазни средства за очите, когато изхвърляте шишетата, за да предпазите себе си и другите от наранявания.

- QIAGEN не тества течните отпадъци, отделяни при процедурите с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit, за остатъчни инфекциозни материали. Замяряване на течните отпадъци с остатъчни инфекциозни материали е малко вероятно, но не е изключено. Затова течните отпадъци следва да се считат за инфекциозни и с тях следва да се борави и да се изхвърлят съгласно местните разпоредби за безопасност.
- Пробите и аликвотните части са потенциално инфекциозни. Изхвърляйте отпадъците от аликвотните части и анализите съгласно местните процедури за безопасност.

## Информация за спешни случаи

CHEMTREC

В САЩ и Канада: 1-800-424-9300

Извън САЩ и Канада: +1 703-527-3887

## Предпазни мерки

Следващите стандартни текстове за рисковете и безопасността се отнасят за компонентите на QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

### Buffer AL



Съдържа: гуанидин хидрохлорид и малеинова киселина. Предупреждение! Може да бъде вреден при поглъщане или вдишване. Предизвиква дразнене на кожата. Може да предизвика алергична реакция на кожата. Предизвиква сериозно дразнене на очите. Да се използват предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. Обадете се в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ или на лекар, ако почувствате неразположение. При дразнене или обрив на кожата: потърсете медицинска помощ. Съблечете замърсените дрехи и ги изперете, преди да се използват отново. Депонирайте съдържанието/съда в одобрено съоръжение за депониране на отпадъци.

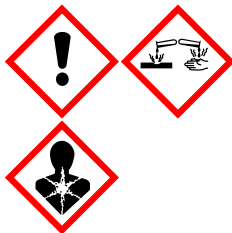
### Buffer AW1



Съдържа: гуанидин хидрохлорид. Предупреждение! Вреден при поглъщане или вдишване. Предизвиква дразнене на кожата. Предизвиква сериозно дразнене на очите. Да се използват предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. Съблечете замърсените дрехи и ги изперете, преди да се използват отново. Депонирайте съдържанието/съда в одобрено съоръжение за депониране на отпадъци.



## QIAGEN Protease



Съдържа: субтилизин. Опасно! Вреден при поглъщане. Предизвиква дразнене на кожата. Предизвиква сериозно увреждане на очите. При вдишване може да предизвика алергия, симптоми на астма или затруднено дишане. Може да причини дразнене на дихателните пътища. Избягвайте вдишване на прах/дим/газ/мъгла/пари/пръски. Да се използват предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. Носете дихателна защита. 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. При експозиция или опасения: Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ или на лекар. Изведете пострадалия на чист въздух и го поддържайте в удобно положение, за да може да диша.

## Обезвреждане на отпадъците

Отпадъците съдържат аликвотни части и реактиви. Тези отпадъци може да съдържат токсични или инфекциозни материали и трябва да се обезвреждат по подходящ начин. В местните разпоредби за безопасност ще намерите съответните процедури за обезвреждане.

Повече информация ще намерите в съответните информационни листове за безопасност (ИЛБ). Тези листове са на разположение онлайн в PDF формат на адрес [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), където можете да намерите, прегледате и разпечатате ИЛБ за всеки набор и компонент от набор QIAGEN.

## Съхранение и работа с реактиви

Трябва да се проверяват датите на изтичане на сроковете на годност и условията на съхранение, отпечатани на опаковката и етикетите на всички компоненти. Не използвайте компоненти, които не са били съхранявани правилно или са с изтекъл срок на годност.

Колонките QIAamp Mini Spin Column трябва да се съхраняват при 2–8 °C след получаване и може да се използват до датата на изтичане на срока на годност, отбелязана на кутията с набора.

**Забележка:** Надпишете колонките QIAamp Mini Spin Column с номера на партидата на набора, за да не се смесват компоненти от различни набори.

Всички буфери може да се съхраняват при стайна температура (15–25 °C) до датата на изтичане на срока на годност, отбелязана на кутията с набора.

Леофилизирана протеаза QIAGEN (QP) може да се съхранява при стайна температура (15–25 °C) до датата на изтичане на срока на годност на набора без влошаване на работните характеристики.

### Стабилност при употреба

Разтворената протеаза QIAGEN (QP) остава стабилна до 1 година, когато се съхранява при 2–8 °C, но само до датата на изтичане на срока на годност на набора. Продължително съхранение на концентриран разтвор на QIAGEN (QP) при стайна температура трябва да се избягва.

Разтворените промиващ буфер 1 (AW1) и промиващ буфер 2 (AW2) остават стабилни до 1 година, когато се съхраняват при стайна температура (15–25 °C), но само до датата на изтичане на срока на годност на набора.

За подготовка на буфери за автоматизираната процедура следвайте инструкциите в *ръководството за потребителя на QIAcube Connect MDx* (може да се изтегли от раздела с източници на информация на страницата на изделието на уебсайта [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Вземане, съхранение и работа с проби

**Забележка:** Стабилността на алиquotните части много зависи от различни фактори и конкретното по-нататъшно приложение. Тя е оценена с примерни по-нататъшни приложения. Потребителят носи отговорността да прочете инструкциите за употреба на конкретното по-нататъшно приложение в неговата лаборатория и/или да валидира цялата процедура, за да установи подходящите условия на съхранение.

Общи препоръки за вземането, транспортирането и съхранението ще намерите в одобреното указание на CLSI MM13-A: „Вземане, транспортиране, подготовка и съхранение на проби за молекулярни методи“. Освен това инструкциите на производителя на избраното изделие за вземане на алиquotни части трябва да се спазват по време на подготовката, съхранението, транспортирането и общите процедури за работа с алиquotни части. Освен инструкциите на производителя на епруветката за вземане на кръв трябва да се вземат предвид указанията в стандарта ISO 20186-2:2019 (E) за извличането на геномна ДНК от венозна цяла кръв.

**Забележка:** Съгласно ISO 20186-2:2019(E) хепаринът от епруветки за взимане на кръв може да намали степента на пречистване на изолираните нуклеинови киселини, а евентуалното пренасяне на елуатите от предишни обработки може да доведе до инхибиране при някои по-нататъшни приложения. Затова препоръчваме алиquotните части кръв да се обработват с EDTA или цитрат като антикоагулант.

Ако използвате пресни алиquotни части кръв в първични епруветки, ги разбъркайте добре (например с неколккратно обръщане на епруветките), преди да ги прехвърлите. Замразените алиquotни части (максимум 3 цикъла замразяване-размразяване) трябва да се размразяват бързо във водна баня при 37 °C, да се разбъркат добре на малка скорост и след това да се темперират до стайна температура (15–25 °C), преди да започне процедурата. Не използвайте алиquotни части кръв, които са били замразявани и размразявани повече от 3 пъти.

Предотвратявайте образуването на пяна в епруветките за аликвотните части, за да осигурите надеждното им прехвърляне. Направете всичко възможно, за да предотвратите образуването на съсиреци. В прехвърлените аликвотни части не трябва да има съсиреци. Криогенните утайки, образувани по време на размразяването на замразени аликвотни части, ще запушат мембраната на колонката QIAamp Mini Spin Column и също така може да попречат на автоматизираната процедура на QIAcube Connect MDx. Ако има видими криогенни утайки, не ги аспирирайте.

Практическият добив и качеството на пречистената ДНК зависят от условията на съхранение на кръвта. По-добри резултати може да се постигнат с по-пресни аликвотни части от кръв. За по-малко време – до 10 дни – препоръчваме да се съхраняват при 2–8 °С. За приложения, изискващи максимален размер на фрагментите – например Саудърн блот, препоръчваме да се съхраняват при 2–8 °С не повече от 3 дни, защото след това ще има известно разпадане на ДНК. За продължително съхранение (повече от 10 дни) вземайте кръв в епруветки със стандартен антикоагулант (препоръчително EDTA, ако е необходима ДНК с голяма молекулна маса) и ги съхранявайте при –20 или –80 °С.

# Важни бележки

## Важни моменти преди започване на протокол

- След получаването на набора проверете неговите компоненти за увреждания. Ако блистерите или шишетата с буфер са увредени, се обърнете към „Техническо обслужване“ или от местния дистрибутор на QIAGEN. При разливи на течности вижте „Информация за безопасността“ (страница 15). Не използвайте набор с увредени компоненти, защото това може да влоши неговите работни характеристики.
- Задължително сменяйте връхчетата на пипетите при всяко прехвърляне на течност. Препоръчваме да се използват връхчета за пипети с аерозолни бариери, за да се сведе до минимум рискът от кръстосано замърсяване.
- Задължително използвайте ръкавици за еднократна употреба по време на цялата процедура и проверявайте редовно дали не са замърсени с материал от аликвотни части. Изхвърлете ръкавиците, ако са се замърсили.
- Не отваряйте повече от една епруветка едновременно, за да се сведе до минимум рискът от кръстосано замърсяване.
- След всички стъпки за импулсно разбъркване на вортекса центрофугирайте кратко време всички епруветки в микроцентрофугата, за да изчистите капките от вътрешната част на капачките. Потребителят е длъжен да осигури проследимостта на аликвотните части по време на цялата процедура.
- Всички стъпки за центрофугиране се извършват при стайна температура (15–25 °C).
- Не използвайте компоненти от други набори с набора, които използвате в момента, освен ако не са със същия номер на партида.
- Предотвратявайте микробиологично замърсяване на реактивите от набора.
- Препоръчваме да се работи в условия с ламинарен въздушен поток, докато аликвотните части се лизират, за да се предотврати опасността от инфекция от потенциално инфекциозен материал.
- Този набор трябва да се използва само от персонал със съответното обучение по лабораторната практика за инвитро диагностика.

## Подготовка на реактивите и буферите

- Подготовка на протеазата QIAGEN

Прибавете 1,2 ml протеазен разтворител (PS) в шишето с лиофилизирана протеаза QIAGEN (QP) и разбъркайте внимателно. Разбъркайте съдържанието на шишето, като го обърнете няколко пъти, за да предотвратите образуване на пяна. QIAGEN (QP) трябва да бъде напълно разтворена.

**Важно:** Не прибавяйте протеаза QIAGEN (QP) направо в буфера за лизиране (AL).

- Подготовка на промивач буфер 1

С мензура прибавете 25 ml етанол (96–100%) в шишето с 19 ml концентриран промивач буфер 1 (AW1). Съхранявайте разтворения промивач буфер 1 (AW1) при стайна температура (15–25 °C).

**Важно:** Задължително разбъркайте разтворения промивач буфер 1 (AW1), като обърнете шишето няколко пъти, преди да започнете процедурата.

- Подготовка на промивач буфер 2

С мензура прибавете 30 ml етанол (96–100%) в шишето с 13 ml концентриран промивач буфер 2 (AW2). Съхранявайте разтворения промивач буфер 2 (AW2) при стайна температура (15–25 °C).

**Важно:** Задължително разбъркайте разтворения промивач буфер 2 (AW2), като обърнете шишето няколко пъти, преди да започнете процедурата.

- Подготовка на буфера за елуиране

Едно шише с буфер за елуиране (AE) е доставено с набора. Силно препоръчваме да се използват връхчета за пипети с аерозолни бариери, когато се пипетира буферът за елуиране (AE) от шишето, и веднага след това шишето да се затваря с капачката, за да се предотврати замърсяване на буфера за елуиране (AE).

**Важно:** Буферът за елуиране (АЕ) съдържа консерванта натриев азид, за който се отчита абсорбцията при дължина на вълната 260 nm. Затова, когато се извършва количествено определяне на ДНК в елуата с измервания на абсорбцията при 260 nm; когато се определя на степента на пречистване на ДНК в елуата с измервания на абсорбцията при 260 nm и 280 nm; или когато се сканира за абсорбция в диапазона от 220 nm до 350 nm, в кюветата за измерване на фоновите показания трябва да има натриев азид със същата концентрация като в елуата. Ако подготвяте например елуат за измервания на абсорбцията с разреждане на 50 µl елуат със 100 µl вода, трябва да пригответе кювета за измерване на фоновите показания с разреждане на 50 µl буфер за елуиране (АЕ) със 100 µl вода. Използвайте прясна дестилирана вода за разрежданията.

## Работа с колонки QIAamp Mini Spin Column

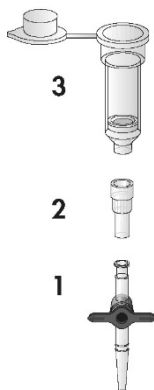
Поради чувствителността на технологиите за амплификация на нуклеинови киселини трябва да се вземат следните предпазни мерки, когато се работи с колонки QIAamp Mini Spin Column, за да се предотврати кръстосано замърсяване между различните подготовки на аликвотни части:

- Накапвайте внимателно аликвотната част или разтвора в колонката QIAamp Mini Spin Column. Пипетирайте аликвотната част в колонката QIAamp Mini Spin Column, без да мокрите ръба на колонката.
- Внимавайте да не докоснете мембраната QIAamp Mini Spin Column с връхчето на пипетата.
- Не отваряйте повече от една колонка QIAamp Mini Spin Column едновременно и внимавайте, за да предотвратите отделяне на аерозоли.



## Подготовка на системата за изтегляне с вакуум QIAvac 24 Plus

Подгответе правилно колонката QIAamp Mini Spin Column, съединителя VacConnector (VC) и вентила VacValve (вижте фигура 2).



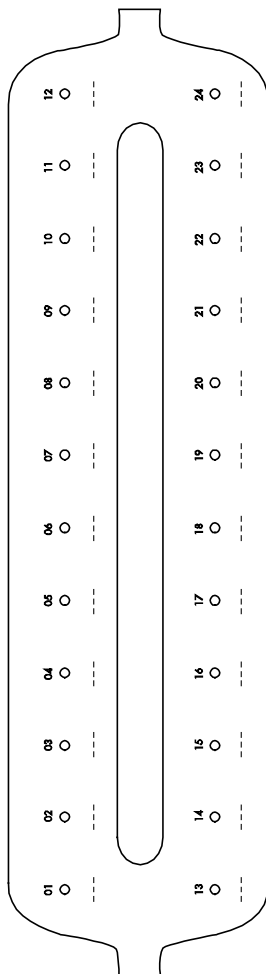
**Фигура 2. Сглобяване на компонентите на QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit за вакуумна обработка на аликвотни части.** (1) Вентил VacValve, (2) съединител VacConnector (VC) и (3) колонка QIAamp Mini Spin Column.

Ако се използва процедурата за изтегляне с вакуум със системата QIAvac 24 Plus, препоръчваме епруветките за лизиране (LT), епруветки за елуиране (ET) и колонките QIAamp Mini Spin да се надпишат по образца на фигура 3 (вижте следващата страница), за да се предотврати объркване на аликвотни части. Тази фигура може да се ксерокопира и да се надпише с имената на аликвотните части. Препоръчваме да се използва подобен образец, ако се използват подобни вакуумни системи или процедурата за центрофугиране.

Дата: \_\_\_\_\_

Оператор: \_\_\_\_\_

№ на серията: \_\_\_\_\_



**Фигура 3. Образец за надписване на епруветки за лизиране (LT), епруветки за елуиране (ET) и колонки QIAamp Mini за използване със системата за изтегляне с вакуум QIAvac 24 Plus.**

# Процедура

## Протокол: Изолиране и пречистване на геномна ДНК от алиquotни части кръв с микроцентрофуга или автоматизирано пречистване на QIAcube Connect MDx

За изолиране и пречистване на геномна ДНК от 200- $\mu$ l алиquotни части цяла кръв, обработена с EDTA или цитрат, с микроцентрофуга или автоматизирано на QIAcube Connect MDx.

### Важни моменти преди започване


- Следващата процедурата съдържа инструкции за обработка на една отделна алиquotна част кръв. Няколко алиquotни части обаче може да се обработват едновременно; броят зависи от капацитета на използваната микроцентрофуга.
- Автоматизирана обработка на 2–10 или 12 алиquotни части може да се извърши на апарат QIAcube Connect MDx.
- При работа с автоматизирани процедури следвайте инструкциите на потребителския интерфейс (на QIAcube Connect MDx) и в *ръководството за потребителя на QIAcube Connect MDx* (може да се изтегли от раздела с източници на информация на страницата на изделието на уебсайта [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).




### Какво трябва да се направи преди започване

- Алиquotните части кръв трябва да се темперират до стайна температура и да бъдат добре разбъркани.
- Всички реактиви и колонки QIAamp Mini Spin Column (в затворени блистери) трябва да бъдат темперирани до стайна температура.

- Нагревателен блок трябва да се настрои на 56 °C за използване на стъпка 4 (задължително както за ръчната, така и за автоматизираната процедура с външно ръчно лизиране).
- Промиваният буфер 1 (AW1), промиваният буфер 2 (AW2) и протеазата QIAGEN (QP) трябва да бъдат приготвени по инструкциите в раздел „Подготовка на реактивите и буферите“ на страница 23.
- Ако в буфера за лизиране (AL) се е образувал преципитат, той трябва да се разтвори с инкубиране при 56 °C.
- При процедурите за качествен контрол в QIAGEN всяка партида набори се одобрява за продажба след функционални изпитвания. Затова реактиви от набори от различни партиди не трябва да се смесват и комбинират.


## Процедура

- За ръчната процедура с микроцентрифуга изпълнете стъпки 1–15.
  - Тази процедура може да се автоматизира по 3 различни начина:
    - Обем за елуиране: 100 µl – напълно автоматизирано (започва да се изпълнява автоматично от стъпка 1)
    - Обем за елуиране: 200 µl – напълно автоматизирано (започва да се изпълнява автоматично от стъпка 1)
    - Ръчно лизиране: полуавтоматизирано с външно ръчно лизиране и обеми за елуиране от 100 до 200 µl, кратни на 10 µl (започва да се изпълнява автоматично след стъпка 5)
1. Пипетирайте 20 µl протеаза QIAGEN (QP) в епруветка за лизиране (LT).
    -  Проверете датата на изтичане на срока на годност на разтворената протеаза преди употреба.
  2. Прибавете 200 µl аликвотна част кръв в епруветката за лизиране (LT).
  3. Прибавете 200 µl буфер за лизиране (AL) в епруветката за лизиране (LT), затворете капачката и разбъркайте импулсно на вортекса най-малко 15 s.

-  Аликвотната част и буферът за лизиране (AL) трябва да бъдат добре разбъркани до получаване на хомогенен разтвор, за да се осигури ефикасно лизиране.
-  Буферът за лизиране (AL) е много гъст и затова точният обем буфер за лизиране (AL) трябва да се прибавя внимателно с подходяща пипета.
-  Не прибавяйте протеаза QIAGEN (QP) направо в буфера за лизиране (AL).

4. Инкубирайте 10 минути при 56 °C.


5. Центрофугирайте епруветката за лизиране (LT) най-малко 5 s на максимална скорост, за да изчистите капките от вътрешната част на капачката.

-  Ако е извършено външно ръчно лизиране (стъпки 1–5), следващите стъпки (6–15) може да се автоматизират на QIAcube Connect MDx по протокола за ръчно лизиране.

6. Прибавете 200 µl етанол (96–100%) в епруветката за лизиране (LT), затворете капачката и разбъркайте импулсно на вортекса най-малко 15 s.

7. Центрофугирайте епруветката за лизиране (LT) най-малко 5 s на максимална скорост, за да изчистите капките от вътрешната част на капачката.

8. Внимателно накапете целия лизат от стъпка 7 в колонката QIAamp Mini Spin Column, без да мокрите ръба. Внимавайте да не докоснете мембраната QIAamp Mini Spin Column с връхчето на пипетата.

-  Ако обработвате няколко аликвотни части, отворяйте само епруветката за лизиране (LT), която ще се обработва в момента.

9. Затворете капачката на колонката QIAamp Mini Spin Column и центрофугирайте 1 минута на около 6000g. Поставете колонката QIAamp Mini Spin Column в чиста епруветка за промиване (WT) и изхвърлете епруветката с филтратата.



Ако лизатът не е преминал изцяло през мембраната след центрофугиране при 6000 x g (8000 оборота в минута), центрофугирайте още 1 минута на максимална скорост (до 20 800 x g).



Ако лизатът пак не е преминал през мембраната след центрофугирането, изхвърлете аликвотната част и повторете изолирането и пречистването с нова аликвотна част материал, като започнете от стъпка 1 на страница 28.

10. Внимателно отворете колонката QIAamp Mini Spin Column и прибавете 500 µl промиващ буфер 1 (AW1), без да мокрите ръба. Внимавайте да не докоснете мембраната QIAamp Mini Spin Column с връхчето на пипетата.
11. Затворете капачката на колонката QIAamp Mini Spin Column и центрофугирайте 1 минута на около 6000g. Поставете колонката QIAamp Mini Spin Column в чиста епруветка за промиване (WT) и изхвърлете епруветката с филтратата.
12. Внимателно отворете колонката QIAamp Mini Spin Column и прибавете 500 µl промиващ буфер 2 (AW2), без да мокрите ръба. Внимавайте да не докоснете мембраната QIAamp Mini Spin Column с връхчето на пипетата.
13. Затворете капачката на колонката QIAamp Mini Spin Column и центрофугирайте 1 минута на пълни обороти (около 20 000g или 14 000 оборота в минута). Поставете колонката QIAamp Mini Spin Column в чиста епруветка за промиване (WT) и изхвърлете епруветката с филтратата.

Центрофугирайте 3 минути на пълни обороти (около 20 000g, или 14 000 оборота в минута), за да изсушите напълно мембраната.



Пропускане на центрофугирането за изсушаване може да доведе до инхибиране при по-нататъшния анализ.

14. Поставете колонката QIAamp Mini Spin Column в нова епруветка за елуиране (ET) и изхвърлете епруветката за промиване (WT) с филтрат. Внимателно отворете капачката на колонката QIAamp Mini Spin Column и накапете 50 до 200 µl буфер за елуиране (AE) в центъра на мембраната.



Използването на нова епруветка за елуиране е важно, за да се предотврати замърсяване с остатъчни буфери за промиване, което може да доведе до инхибиране при по-нататъшния анализ.



Накапването на буфер за елуиране (AE) в центъра на мембраната е особено важно при по-малки обеми за елуиране, за да се осигури оптимално извличане на нуклеинови киселини и буфер за елуиране (AE).

15. Затворете капачката и инкубирайте 1 минута при стайна температура.

Центрофугирайте 1 минута на около 6000g (8000 оборота в минута), за да се елуира ДНК.



Капачките на епруветките за елуиране трябва да сочат в посока, обратна на посоката на въртене на ротора (например, ако роторът се върти по посока на часовниковата стрелка, капачките трябва да сочат в посока обратно на часовниковата стрелка).



При всички автоматизирани процедури изваждайте елуатите от апарата непосредствено след края на обработката и ги съхранявайте правилно.

## Протокол: Изолиране и пречистване на геномна ДНК от аликвотни части кръв със система за изтегляне с вакуум

За изолиране и пречистване на геномна ДНК от 200 µl аликвотни части цяла кръв, обработена с EDTA или цитрат, със система за изтегляне с вакуум – например QIAvac 24 Plus.

### Важен момент преди започване

Следващата процедурата съдържа инструкции за обработка на една отделна аликвотна част кръв. На системата за изтегляне с вакуум QIAvac 24 Plus обаче може едновременно да се обработват до 24 аликвотни части.

### Какво трябва да се направи преди започване

- Аликвотните части кръв трябва да се темперират до стайна температура и да бъдат добре разбъркани.
- Всички реактиви и колонки QIAamp Mini Spin Column (в затворени блистери) трябва да бъдат темперирани до стайна температура.
- Нагревателен блок трябва да се настрои на 56 °C за използване на стъпка 4.
- Промиваният буфер 1 (AW1), промиваният буфер 2 (AW2) и протеазата QIAGEN (QP) трябва да бъдат приготвени по инструкциите в раздел „Подготовка на реактивите и буферите“ на страница 23.
- Ако в буфера за лизиране (AL) се е образувал преципитат, той трябва да се разтвори с инкубиране при 56 °C.
- Поставете съединител VacConnector (VC) на всеки луер на системата за изтегляне с вакуум, за да се сведе до минимум рискът от кръстосано замърсяване.
- Съдът за отпадъци на системата за изтегляне с вакуум трябва да бъде празен и всички съединения трябва да бъдат свързани правилно.



- Подробна информация за работата със системата за изтегляне с вакуум и особено за нейната поддръжка ще намерите в доставения с нея наръчник.
- При процедурите за качествен контрол в QIAGEN всяка партида набори се одобрява за продажба след функционални изпитвания. Затова реактиви от набори от различни партиди не трябва да се смесват и комбинират.

## Процедура

1. Пипетирайте 20 µl протеаза QIAGEN (QP) в епруветка за лизиране (LT).
  - ⓘ Проверете датата на изтичане на срока на годност на разтворената протеаза преди употреба.
2. Прибавете 200 µl алиquotна част кръв в епруветката за лизиране (LT).
3. Прибавете 200 µl буфер за лизиране (AL) в епруветката за лизиране (LT), затворете капачката и разбъркайте импулсно на вортекса най-малко 15 s.
  - ⓘ Алиquotната част и буферът за лизиране (AL) трябва да бъдат добре разбъркани до получаване на хомогенен разтвор, за да се осигури ефикасно лизиране.
  - ⓘ Буферът за лизиране (AL) е много гъст и затова точният обем буфер за лизиране (AL) трябва да се прибавя внимателно с подходяща пипета.
  - ⓘ Не прибавяйте протеаза QIAGEN (QP) направо в буфера за лизиране (AL).
4. Инкубирайте 10 минути при 56 °C.
5. Центрофугирайте епруветката за лизиране (LT) най-малко 5 s на максимална скорост, за да изчистите капките от вътрешната част на капачката.
6. Прибавете 200 µl етанол (96–100%) в епруветката за лизиране (LT), затворете капачката и разбъркайте импулсно на вортекса най-малко 15 s.
7. Центрофугирайте епруветката за лизиране (LT) най-малко 5 s на максимална скорост, за да изчистите капките от вътрешната част на капачката.

8. Поставете колонката QIAamp Mini Spin Column в съединителя VacConnector (VC) на системата за изтегляне с вакуум. Главният вакуумен вентил (между системата за изтегляне с вакуум и вакуумния колектор) и вентилът на винтовата капачка (на вакуумния колектор) трябва да бъдат затворени. Включете вакуумната помпа. Изхвърлете епруветката за промиване (WT) (2 ml), в която е поставена колонката QIAamp Mini Spin Column, в блистера.

Вакуум се създава само в системата за свързване (ако се използва), а не във вакуумния колектор.

9. Внимателно накапете целия лизат от стъпка 7 в колонката QIAamp Mini Spin Column, без да мокрите ръба. Внимавайте да не докоснете мембраната QIAamp Mini Spin Column с връхчето на пипетата.



Ако обработвате няколко аликвотни части, отваряйте само епруветката за лизиране (LT), която ще се обработва в момента.

10. Отворете главния вакуумен вентил. След като лизатът се изтегли през колонката QIAamp Mini Spin Column, затворете главния вакуумен вентил и отворете вентила на винтовата капачка на вакуумния колектор, за да влезе въздух. Затворете вентила на винтовата капачка, след като в колектора вече няма вакуум.


След затварянето на главния вакуумен вентил вакуум се създава само в системата за свързване (ако се използва), а не във вакуумния колектор.




Използвайте вентила на винтовата капачка на вакуумния колектор за бързо девакуумиране.



Ако се обработват няколко колонки QIAamp Mini Spin Column едновременно, препоръчваме вентилът VacValve на всяка колонка да се затваря, след като лизатът премине, за да се намали времетраенето на тази стъпка от процедурата за изтегляне с вакуум.


 Ако лизатът не е преминал изцяло през мембраната след 10 минути, поставете колонката QIAamp Mini Spin Column в чиста епруветка за промиване (WT), затворете капачката и центрофугирайте на 6000 x g (8000 оборота в минута) 3 минути или докато лизатът премине изцяло. Поставете колонката QIAamp Mini Spin Column в друга чиста епруветка за промиване (WT) и продължете със стъпка 10 от протокола на страница 34.

 Ако лизатът пак не е преминал през мембраната след центрофугирането, изхвърлете аликвотната част и повторете изолирането и пречишването с нова аликвотна част материал, като започнете от стъпка 1 на страница 33.


11. Накапете 750 µl промиващ буфер 1 (AW1) в колонката QIAamp Mini Spin Column, без да мокрите ръба. Внимавайте да не докоснете мембраната QIAamp Mini Spin Column с връхчето на пипетата. Оставете капачката на колонката отворена и отворете главния вакуумен вентил. След като промиващият буфер 1 (AW1) се изтегли през колонката QIAamp Mini Spin Column, затворете главния вакуумен вентил и отворете вентила на винтовата капачка, за да влезе въздух в колектора. Затворете вентила на винтовата капачка, след като в колектора вече няма вакуум.


12. Накапете 750 µl промиващ буфер 2 (AW2) в колонката QIAamp Mini Spin Column, без да мокрите ръба. Внимавайте да не докоснете мембраната QIAamp Mini Spin Column с връхчето на пипетата. Оставете капачката на колонката отворена и отворете главния вакуумен вентил. След като промиващият буфер 2 (AW2) се изтегли през колонката QIAamp Mini Spin Column, затворете главния вакуумен вентил и отворете вентила на винтовата капачка, за да влезе въздух в колектора. Затворете вентила на винтовата капачка, след като в колектора вече няма вакуум.

13. Затворете капачката на колонката QIAamp Mini Spin Column, извадете я от системата за изтегляне с вакуум и изхвърлете съединителя VacConnector (VC). Поставете колонката QIAamp Mini Spin Column в чиста епруветка за промиване (WT) и центрофугируйте 3 минути на пълни обороти (около 20 000g, или 14 000 оборота в минута), за да изсушите напълно мембраната.

 Пропускане на центрофугирането за изсушаване може да доведе до инхибиране при по-нататъшния анализ.


14. Поставете колонката QIAamp Mini Spin Column в нова епруветка за елуиране (ET) и изхвърлете епруветката за промиване (WT) с филтрата. Внимателно отворете капачката на колонката QIAamp Mini Spin Column и накапете 50 до 200 µl буфер за елуиране (AE) в центъра на мембраната.


 Използването на нова епруветка за елуиране (ET) е важно, за да се предотврати замърсяване с остатъчни буфери за промиване, което може да доведе до инхибиране при по-нататъшния анализ.

 Накапването на буфер за елуиране (AE) в центъра на мембраната е особено важно при по-малки обеми за елуиране, за да се осигури оптимално извличане на нуклеинови киселини и буфер за елуиране (AE).

15. Затворете капачката и инкубирайте 1 минута при стайна температура.

Центрофугируйте 1 минута на 6000g (8000 оборота в минута), за да се елуира ДНК.

 Капачките на епруветките за елуиране (ET) трябва да сочат в посока, обратна на посоката на въртене на ротора (например, ако роторът се върти по посока на часовниковата стрелка, капачките трябва да сочат в посока обратно на часовниковата стрелка).

 Изпълнете процедурата за поддръжка на системата за изтегляне с вакуум, след като изпълните този протокол (подробна информация ще намерите в наръчника, доставен със системата).

## Контрол на качеството

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

## Ограничения

Работните характеристики на системата са установени с цяла кръв за изолиране на геномна ДНК.

Информация за употребата на QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ще намерите в раздела „Описание и принцип на действие“. Автоматизираната процедура е описана в раздела „Протокол: Изолиране и пречистване на геномна ДНК от алиquotни части кръв с микроцентрифуга или автоматизирано пречистване на QIAcube Connect MDx“.

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.

Трябва да се използват адекватни контроли за по-нататъшните приложения, за да се сведе до минимум рискът от отрицателно отражение върху диагностичните резултати. 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.

## Работни характеристики

Работните характеристики можете да намерите в раздела с източници на информация на страницата на изделието на уебсайта [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Ръководство за отстраняване на проблеми

Това ръководство за отстраняване на проблеми може да бъде полезно за отстраняване на евентуално възникнали проблеми. За повече информация вижте и страницата „Често задавани въпроси (Frequently Asked Questions)“ в нашия Център за техническа поддръжка: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Учените в „Техническо обслужване“ на QIAGEN с готовност ще отговорят на всички Ваши въпроси – както за информацията и протоколите в този наръчник, така и за технологиите на работа с аликвотни части и анализи (информация за контакт ще намерите на уебсайта [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Коментари и предложения

### Обща работа

- a) Запушване на връхчетата за пипети по време на прехвърляне на аликвотни части
- Разбъркайте добре аликвотните части кръв (например като обърнете епруветките няколко пъти), преди да ги прехвърлите. Замразените аликвотни части трябва да се размразяват бързо във водна баня при 37 °C, да се разбъркат добре на малка скорост и след това да се темперират до стайна температура (15–25 °C), преди да започне процедурата.
- Направете всичко възможно, за да предотвратите образуването на съсиреци. В прехвърлените аликвотни части не трябва да има съсиреци. Криогенните утайки, образувани по време на размразяването на замразени аликвотни части, ще запушат мембраната на колонката QIAamp Mini Spin Column или може да създадат проблеми по време на автоматизираната процедура.
- b) Запушена колонка QIAamp Mini Spin Column
- Процедура при центрофугиране:**
- Ако лизатът не е преминал изцяло през мембраната след центрофугиране при 6000 x g (8000 оборота в минута), центрофугирайте още 1 минута на максимална скорост (до 20 800 x g).
- Ако лизатът пак не е преминал през мембраната след центрофугирането, изхвърлете аликвотната част и повторете изолирането и пречистването с нова аликвотна част материал, като започнете от стъпка 1.
- Процедура при изтегляне с вакуум:**
- Ако дебитът е малък, времето за изтегляне с вакуум може да се удължи.
- Другият вариант е вентилът VacValve (ако се използва) да се затвори и възелът със съединителя VacConnector и VacValve да се разедини внимателно от колонката QIAamp Mini Spin Column, без да се губи лизат.
- Извадете колонката QIAamp Mini Spin Column от вакуумния колектор, поставете я в 2-ml епруветка за промиване и я центрофугирайте на максимална скорост, докато аликвотната част премине изцяло през мембраната. Съединете отново възела с VacConnector и VacValve, съдържащ останалия лизат. Включете вакуумната помпа, отворете VacValve и изтеглете останалия лизат.



## Коментари и предложения

Повторете описаната по-горе процедура, ако колонката QIAamp Mini Spin Column продължава да се запушва.

Ако лизатът пак не е преминал през мембраната след центрофугирането, изхвърлете аликвотната част и повторете изолирането и пречиштането нова аликвотна част материал, като започнете от стъпка 1.

### Обща информация

Криогенни утайки може да се образуват при многократно замразяване и размразяване. Те може да запушат колонката QIAamp Mini Spin Column. Не използвайте аликвотни части кръв, които са били замразявани и размразявани повече от 3 пъти. Замразените аликвотни части трябва да се размразяват бързо във водна баня при 37 °C, да се разбъркат добре на малка скорост и след това да се темперират до стайна температура (15–25 °C), преди да започне процедурата.

- c) В буфера за лизиране (AL) се е образувал преципитат
- Разтворете го с инкубиране на буфера за лизиране (AL) при 56 °C.
- d) Получават се различни обеми за елуиране
- Извлеченият обем на елуата зависи от характеристиките на аликвотната част.
- Тъй като на мембраната на колонката остава известно количество буфер за елуиране (AE) след центрофугирането, събраният обем елуат може да бъде по-малък от обема на буфера за елуиране, накапан в колонката.
- Накапвайте буфер за елуиране (AE) в центъра на мембраната. Накапването на буфер за елуиране (AE) в центъра на мембраната е особено важно при по-малки обеми за елуиране, за да се осигури оптимално извличане на нуклеинови киселини и буфер за елуиране (AE).
- e) Не може да се постигне вакуум при около 800–900 mbar
- Вакуумният колектор не е добре затворен. Натиснете капачката на вакуумния колектор, след като включите вакуумната помпа. Проверете дали необходимият вакуум е постигнат. Уплътнението на капачката на QIAvac е износено. Огледайте уплътнението на колектора и го сменете, ако е необходимо.
- Вентилите VacValves са износени. Свалете всички вентили VacValves и вкарайте съединителите VacConnectors (VC) направо в луерите. Поставете колонките QIAamp Mini Spin Column в съединителите VacConnectors (VC), затворете капачките на колонките и включете вакуумната помпа. Проверете дали необходимият вакуум е постигнат. Сменете вентилите VacValves, ако е необходимо.
- Има теч от връзката с вакуумната помпа. Затворете всички луери с техните капачки и включете вакуумната помпа. Проверете дали вакуумното налягане е стабилно след включването на помпата (и затварянето на Vacuum Regulator). Сменете връзките между помпата и вакуумния колектор, ако е необходимо.
- Ако необходимото вакуумно налягане пак не може да се постигне, сменете вакуумната помпа с по-мощна.
- f) За проблеми при автоматизираната процедура
- Проверете в *ръководството за потребителя на QIAcube Connect MDx* (може да се изтегли от раздела с източници на информация на страницата на изделието на уебсайта [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Нисък практически добив на ДНК

- a) Непълно лизиране на алиquotни части
- Протеазата QIAGEN (QP) може да изгуби активност, ако стои дълго време на топло. Повторете процедурата с нови алиquotни части и прясна QIAGEN (QP).
- Задължително разваряйте протеаза QIAGEN (QP) с протеазен разтворител (PS) по дадените по-горе инструкции. Разбъркайте съдържанието на шишето, като го обърнете няколко пъти, за да предотвратите образуване на пяна. QIAGEN (QP) трябва да бъде напълно разтворена. Не прибавяйте протеаза QIAGEN (QP) направо в буфера за лизиране (AL).
- Алиquotната част и буферът за лизиране (AL) трябва да бъдат добре разбъркани до получаване на хомогенен разтвор, за да се осигури ефикасно лизиране. Буферът за лизиране (AL) е много гъст и затова точният обем буфер за лизиране (AL) трябва да се прибавя внимателно с подходяща пипета.
- b) Използван е етанол с концентрация, по-ниска от 96–100%
- Повторете процедурата за пречистване с нови алиquotни части и 96–100% етанол. Не използвайте денатуриран спирт, който съдържа други вещества – например метанол или метилетилкетон.
- c) Буферите AW1 или AW2 не са били приготвени правилно
- Концентрираните буфери AW1 и AW2 трябва да бъдат разреждени с точния обем 96–100% етанол и разбъркани с неколккратно обръщане на шишето преди започване на процедурата.
- d) Алиquotните части кръв не са били съхранявани правилно
- Практическият добив и качеството на пречистената ДНК зависят от условията на съхранение на кръвта. По-добри резултати може да се постигнат с по-пресни алиquotни части от кръв. За по-малко време – до 10 дни – препоръчваме да се съхраняват при 2–8 °C. За приложения, изискващи максимален размер на фрагментите – например Саудърн блот, препоръчваме да се съхраняват при 2–8 °C не повече от 3 дни, защото след това ще има известно разпадане на ДНК. За по-продължително съхранение (повече от 10 дни) вземайте кръв в епруветки със стандартен антикоагулант (препоръчително EDTA, ако е необходима ДНК с голяма молекулна маса) и ги съхранявайте при –20 или –80 °C.
- e) Замразени алиquotни части кръв не са били добре разбъркани след размразяване
- Замразените алиquotни части трябва да се размразяват бързо във водна баня при 37 °C, да се разбъркат добре на малка скорост и след това да се темперират до стайна температура (15–25 °C), преди да започне процедурата.

### ДНК няма добри характеристики при по-нататъшните реакции

- a) В елуата няма или има малко ДНК
- Проверете възможните причини в раздела „Нисък практически добив на ДНК“ по-горе. Ако е възможно, прибавете по-голямо количество елуат в реакцията.
- b) Използван е неправилен обем за елуиране
- Определете подходящия максимален обем на елуата за по-нататъшното приложение. Намалете или увеличете прибавения обем елуат в по-нататъшното приложение по съответния начин. Обемът за елуиране може да се адаптира пропорционално. При елуиране с по-малки обеми буфери за елуиране (AE) се получават по-концентрирани нуклеинови киселини, но общият практически добив може да бъде по-малък.











### Коментари и предложения

---








- |   |   |
|---|---|
| c) Не е използвана достатъчно ДНК                       | Извършете количествено определяне на пречистената ДНК със спектрофотометрично измерване на абсорбцията при дължина на вълната 260 nm.   |
| d) Използвана е твърде много ДНК                        | Твърде голямо количество ДНК може да инхибира някои ензимни реакции. Извършете количествено определяне на пречистената ДНК със спектрофотометрично измерване на абсорбцията при дължина на вълната 260 nm.  |
| e) Възможно пренасяне с инхибитор от предишни обработки | Стъпката за центрофугиране за изсушаване преди елуирането задължително трябва да се извърши, за да се предотврати евентуално инхибиране при по-нататъшния анализ. Използването на нова епруветка за елуиране (ЕТ) е важно, за да се предотврати замърсяване с остатъчни буфери за промиване, което може да доведе до инхибиране при по-нататъшния анализ. |

# Символи

Следните символи фигурират в инструкциите за употреба или на опаковката и етикетите:

Символ	Описание на символа
	Съдържа достатъчно реактиви за <N> реакции
	Използвайте до
	Това изделие изпълнява изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 на Европейския парламент и на Съвета за медицинските изделия за инвитро диагностика.
	Медицинско изделие за инвитро диагностика
	След получаване
	Отворете при получаване; съхранявайте колонките QIAamp Mini Spin Column при 2–8 °C
	Каталожен номер
	Партиден номер
	Номер на материал (на етикета на компонента)
	Компоненти

Символ	Описание на символа
	Съдържа
	Номер
	Глобален номер на търговска единица
Rn	„R“ означава редакция на инструкциите за употреба, а „n“ е номерът на редакцията
	Ограничение на температурата
	Производител
	Направете справка с инструкциите за употреба
	Обем
	Запишете днешната дата след прибавянето на етанол в шишето
	Прибавяне
	Лиофилизиран
	Разтворете в

Символ	Описание на символа
	Етанол
	Гуанидин хидрохлорид
	Субтилизин
	Води до
	Направете справка с инструкциите за употреба
	Важна бележка
	Уникална идентификация на изделията

## Информация за поръчка

Изделие	Съдържание	Каталожен №
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	За 50 подготовки: колонки QIAamp Mini Spin Column, буфери, реактиви, епруветки, съединители VacConnectors	61104
Свързани изделия		
QIAcube Connect MDx*	Апарат и 1 година гаранция за части и труд	9003070
Принадлежности		
QIAvac 24 Plus <sup>†</sup>	Вакуумен колектор за обработка на 1–24 колонки за центрофугиране: включва QIAvac 24 Plus Vacuum manifold, капачки за луер, бързи съединения	19413
Vacuum Pump (230 V, 50 Hz) <sup>†</sup>	Универсална вакуумна помпа (капацитет 34 литра в минута, вакуум 8 mbar абсолютни)	84020
VacConnectors (500) <sup>†</sup>	500 съединителя за еднократна употреба с колонки за центрофугиране QIAamp на луери	19407
VacValves (24)	24 вентила за употреба с QIAvac 24 и QIAvac 24 Plus	19408
Vacuum Regulator	За употреба с колектори QIAvac	19530

Изделие	Съдържание	Каталожен №
QIAvac Connecting System	Система за свързване на вакуумен колектор с вакуумна помпа: включва поставка, шишета за отпадъци, шлаухи, съединения, вентил, манометър, 24 вентила VacValves	19419
Rotor Adapters (10 x 24)	За 240 подготовки: 240 роторни и адаптера за еднократна употреба и 240 епруветките за елуиране (1,5 ml); за употреба с QIAcube Connect MDx	990394
Rotor Adapter Holder	Държач за 12 роторни адаптера за еднократна употреба; за употреба с QIAcube Connect MDx	990392
Sample Tubes CB (2 ml)	1000 епруветки с конични завиващи се капачки без престилка на основата (2 ml) за употреба с QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Капачки за стативи за шейкър (12)	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Шишета с реактиви (30 ml) с капачки; 6 в опаковка; за употреба с QIAcube Connect MDx	990393
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	Филтърни връхчета за еднократна употреба, на статив; (8 × 128). За употреба с QIAcube Connect MDx	990352



Изделие	Съдържание	Каталожен №
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (1024)	Филтърни връхчета за еднократна употреба, с широк отвор, на статив; (8 × 128); не са задължителни за всички протоколи. За употреба с QIAcube Connect MDx	990452
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Филтърни връхчета за еднократна употреба, на статив; (8 × 128). За употреба с апарати QIAcube Connect MDx и QIASymphony SP/AS	990332

\* Апаратът QIAcube Connect MDx не се предлага във всички страни. По-подробна информация можете да получите от „Техническо обслужване“ на QIAGEN.

† За употреба с протоколи за изтегляне с вакуум.

Актуална информация за лицензиране и декларации за освобождаване от отговорност за конкретни изделия ще намерите в съответните инструкции за употреба на набора QIAGEN. Инструкции за употреба на набори QIAGEN може да се изтеглят от уебсайта [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), да се поръчат от „Техническо обслужване“ или от местния дистрибутор на QIAGEN.

# Хронология на редакциите на документа

## Редакция

## Описание

R1, юни 2022 г.

Версия 3, редакция 1

- Промяна до версия 3 на набора за съответствието с Регламента за медицинските изделия за инвитро диагностика
- Промяна в „Описание и принцип на действие“
- Промяна в „Предоставени материали“ (добавяне на активни съставки) и „Необходими, но непредоставени материали“
- Промяна в „Предупреждения и предпазни мерки“ (добавяне на раздел „Информация за спешни случаи“ и „Обезвреждане на отпадъците“)
- Промяна в „Съхранение и работа с реактиви“
- Промяна във „Вземане, съхранение и работа с проби“
- Промяна във „Важни бележки“ и „Процедура“
- Промяна в „Ограничения“
- Промяна в „Работни характеристики“
- Промяна в раздел „Символи“
- Промяна в „Информация за поръчка“

Тази страница умишлено е оставена празна

#### Ограничено лицензно споразумение за QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Употребата на това изделие означава, че всеки купувач или потребител на изделието приема следните условия:

1. Изделието може да се използва само по протоколите, предоставени с изделието 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 изделието, този наръчник и допълнителните протоколи, които може да се изтеглят от уебсайта [www.qiagen.com](http://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 може да се използват повторно, обновяват или препродават.
4. QIAGEN изрично се освобождава от отговорност за всякакви други лицензи – явни или подразбиращи се – освен изрично посочените.
5. Купувачът и потребителят на набора се съгласяват да не предприемат и да не позволяват на други лица да предприемат стъпки, които може 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.

Актуалните условия на лиценза ще намерите на уебсайта [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Търговски марки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co. KG).

Jun-2022 HB-3030-001 1127543BG © 2022 QIAGEN, всички права запазени.

Поръчки: [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Техническа поддръжка: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Уебсайт [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)