

Brugsanvisning til QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit (håndbog)



50

Version 3



Til in vitro-diagnostisk brug
Til brug med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND



R1 1127543DA

Indhold

Tilsligtet anvendelse	4
Tilsligtet bruger	4
Beskrivelse og princip	5
Lysering af blodceller	5
Binding af genomisk DNA til QIAamp Mini-spin-kolonmembranen	5
Fjernelse af restkontaminanter	6
Eluering af rent genomisk DNA	6
Det genomiske DNA's udbytte og kvalitet	7
Automatiseret oprensning på QIAcube Connect MDx	7
Oversigt og forklaring	10
Medfølgende materialer	11
Kit-indhold	11
Sættets komponenter	12
Nødvendige materialer, som ikke medfølger	13
Yderligere reagenser	13
Forbrugsartikler	13
Udstyr	13
Kun til vakuumproceduren	13
Kun til den automatiske procedure	14
Advarsler og forholdsregler	15
Sikkerhedsinformation	15
Forholdsregler	16

Bortskaffelse	17
Opbevaring og håndtering af reagenser	18
Stabilitet under brug	18
Prøvetagning, -opbevaring og -håndtering	19
Vigtige bemærkninger	21
Vigtige punkter, før en protokol startes	21
Klargøring af reagenser og buffere.....	22
Behandling af QIAamp Mini-spin-kolonner	23
Opsætning af QIAvac 24 Plus-vakuumsystem.....	24
Procedure	26
Protokol: Isolering og oprensning af genomisk DNA fra blodprøver vha. en mikrocentrifuge/automatisk oprensning på QIAcube Connect MDx.....	26
Protokol: Isolering og oprensning af genomisk DNA fra blodprøver vha. et vakuumsystem	30
Kvalitetskontrol	34
Begrænsninger	35
Ydelseskarakteristika	36
Fejlfindingsvejledning.....	37
Symboler	40
Bestillingsinformation.....	43
Revisionshistorik for dokumentet	45

Tilsigtet anvendelse

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit er et system, der anvender silicamembranteknologi (QIAamp-teknologi) til isolering og oprensning af genomisk DNA fra biologiske prøver.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit er beregnet til in vitro-diagnostisk brug.

Tilsigtet bruger

Produktet er beregnet til brug af professionelle brugere, såsom laboratorieteknikere og læger, der er uddannet i molekylærbiologisk teknik.

Beskrivelse og princip

Hver QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedure består af 4 trin:

- Lysering af cellerne i blodprøven
- Binding af det genomiske DNA i cellelysate til membranen af en QIAamp Mini-spin-kolonne
- Vask af membranen
- Eluering af det genomiske DNA fra membranen

Denne håndbog indeholder protokoller for 2 alternative QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurer: Centrifugeringsproceduren, der kræver en centrifuge eller kan automatiseres på QIAcube® Connect MDx (figur 1), og vakuumproceduren, som kræver en centrifuge og et vakuumsystem (se diagrammet på side 9).

Lysering af blodceller

Prøver bliver lyseret under denatureringsforhold ved forhøjede temperaturer. Lysering udføres ved tilstedeværelsen af QIAGEN® Protease (QP) og lysisbuffer (AL).

Binding af genomisk DNA til QIAamp Mini-spin-kolonnemembranen

For at kunne optimere bindingen af genomisk DNA til QIAamp Mini-spin-kolonnemembranen, tilsættes der først ethanol til lysaterne. Hvert lysat bliver dernæst overført til QIAamp Mini-spin-kolonnen, og genomisk DNA adsorberes på silica-membranen samtidig med, at lysate trækkes igennem via vakuumtryk eller centrifugalkraft.

Fjernelse af restkontaminanter

Mens det genomiske DNA forbliver bundet til QIAamp Mini-spin-kolonne-membranen, bliver kontaminanter effektivt vasket bort vha. den første vaskebuffer 1 (AW1) og dernæst vaskebuffer 2 (AW2).

Eluering af rent genomisk DNA

Genomisk DNA elueres fra membranen på QIAamp Mini-spin-kolonnen vha. 50-200 µl elueringsbuffer (AE). Det eluerede DNA er klar til brug i forskellige efterfølgende analyser, herunder forskellige efterfølgende in vitro-diagnostiske analyser. Elueringsbuffer (AE) bør ækvilibreres til stuetemperatur (15-25 °C), før det tilsættes kolonnen.

På grund af den resterende elueringsbuffer, der tilbageholdes af spin-kolonnemembranen efter centrifugering, kan den genvundne eluatmængde være lavere end mængden af påført elueringsbuffer (AE) på kolonnen. Mængden af genfundet eluat afhænger af prøvens beskaffenhed. Elueret DNA indsamles i elueringsrør (ET) og kan opbevares ved 2-8 °C i op til 4 uger. Ved langtidsoptbevaring anbefaler vi opbevaring ved -20 °C.

Bemærk: Eluatets stabilitet afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Den er blevet evalueret for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at konsultere brugsanvisningen til den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i laboratoriet, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

Det genomiske DNA's udbytte og kvalitet

DNA-udbyttet afhænger af prøven og kvaliteten af udgangsmaterialet. Elution i mindre mængder øger den endelige DNA-koncentration i eluatet, men reducerer det samlede DNA-udbytte en smule. Vi anbefaler at anvende en elueringsmængde, der er passende for den tilsigtede senere anvendelse.

Udbyttet og kvaliteten af det isolerede genomiske DNA er egnet til efterfølgende detektionsprocedurer i molekulære diagnostikker såsom PCR. Diagnostiske analyser bør udføres i henhold til producentens anvisninger.

Automatiseret oprensning på QIAcube Connect MDx

QIAcube Connect MDx udfører automatisk isolering og oprensning af nukleinsyrer. Det kan behandle op til 12 prøver pr. kørsel.

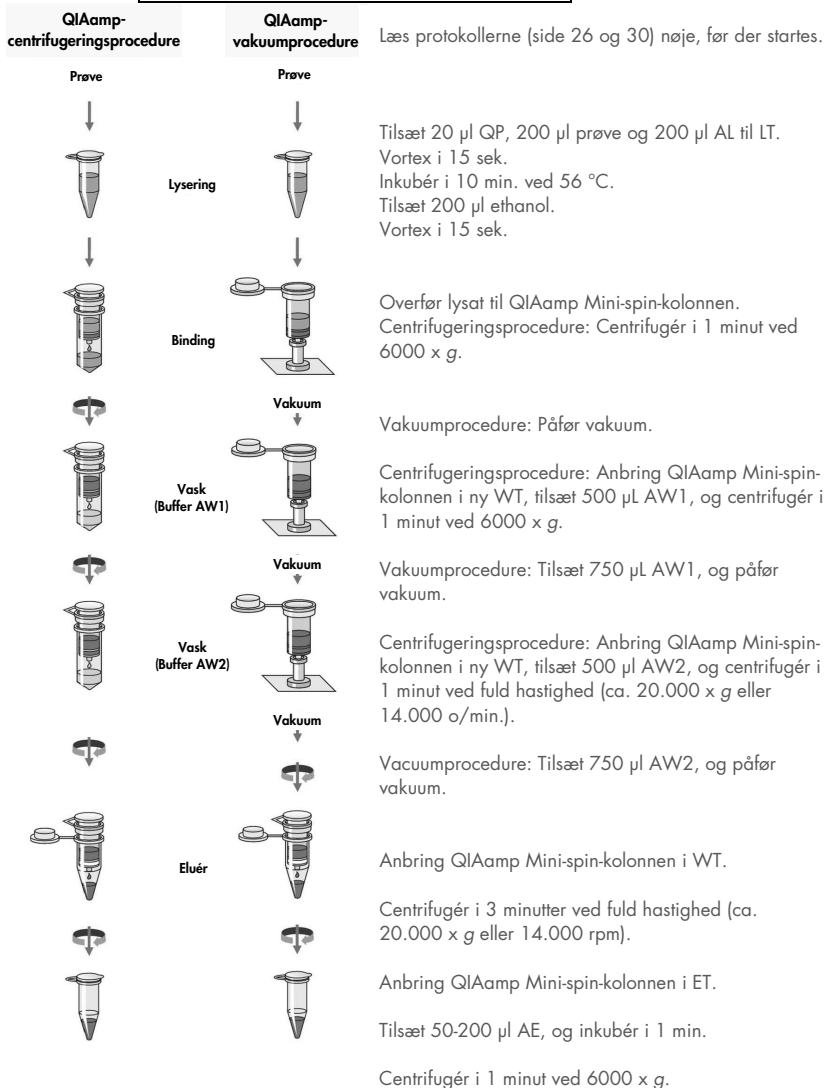
Klargøring af prøve vha. QIAcube Connect MDx følger de samme trin som den manuelle procedure (dvs. lysning, binding, vask og eluering), hvilket gør det muligt at anvende QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit til oprensning af DNA af høj kvalitet.

Hvis QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit automatiseres på QIAcube Connect MDx, kan instrumentet behandle færre end 50 prøver på grund af dødvolumen, fordampning og yderligere forbrug af reagenser ved automatiseret pipettering. QIAGEN garanterer kun 50 prøvebehandlinger ved manuel anvendelse af QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



Figur 1. QIAcube Connect MDx.

QIAamp DSP DNA Blood Mini centrifugerings- og vaccumprocedurer



Oversigt og forklaring

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit anvender veletableret teknologi til en hurtig og nem måde at isolere og oprense genomisk DNA fra 200 µL helblodsprøver på.

QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedureerne, som er beregnet til samtidig behandling af multiple blodprøver, resulterer i oprenset DNA klar til brug. Procedureerne er egnede til anvendelse med frisk eller frossent helblod og blod, som er blevet behandlet med citrat eller EDTA.

Tidligere separation af leukocytter er ikke nødvendig. Procedureerne kræver hverken phenol/chloroformekstraktion eller alkoholbundfald og kræver minimal interaktion af brugeren, hvilket gør håndteringen af potentielt infektiøse prøver sikker. Procedureerne er designet med henblik på at undgå prøve-til-prøve krydskontaminering. Det oprensede DNA er klar til anvendelse i PCR eller andre applikationer, eller kan alternativt opbevares ved -20 °C til langtidsopbevaring.

De enkle QIAamp DSP centrifugerings- og vacuumprocedurer er egnede til samtidig behandling af multiple prøver. Nogle af QIAamp-centrifugeringsprocedurerne kan fuldautomatiseres med QIAcube Connect MDx for øget standardisering og nemmere anvendelse (side 7).

Til vacuumproceduren i denne protokol kræves en vakuumanifold (f.eks. QIAvac 24 Plus med QIAvac Connecting System) og en vakuumpumpe, der kan frembringe et vakuum på ca. 800-900 mbar (f.eks. QIAGEN Vacuum Pump). Der skal bruges Vacuum Regulator (indgår i QIAvac Connecting System) til nem overvågning af vakuumtryk og praktisk udløsning af vakuumtrykket.

Medfølgende materialer

Kit-indhold


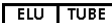







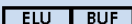



QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Katalognr.

61104

Antal forberedelser

50

	Identitet	Symboler	Kvantitet
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (QIAamp Mini Spin Columns med vaskerør) (WT) (2 ml)		50
ET	Elueringsrør (1,5 ml)	 	50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysisrør (1,5 ml)		50
WT	Vaskerør (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer* (lysisbuffer)		12 ml
AW1	Vaskebuffer 1 [†] (koncentrat)		19 ml
AW2	Vaskebuffer 2 [†] (koncentrat)		13 ml
AE	Elueringsbuffer [†]		25 ml
PS	Protease Solvent [†] (proteaseopløsningsmiddel)		2 ml
QP	QIAGEN-protease [§]		1 hætteglas
-	Brugsanvisning (Håndbog)		1

* Hvis QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit automatiseres på QIAcube Connect MDx-instrumentet, kan instrumentet behandle færre end 50 prøver på grund af dødvolumen, fordampning og yderligere forbrug af reagenser ved automatiseret pipettering. QIAGEN garanterer kun 50 prøvebehandlinger ved manuel anvendelse af QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

[†] Indeholder guanidinhydrochlorid. Ikke kompatibel med desinfektionsmidler, der indeholder blegemiddel. Se Sikkerhedsinformation på side 15 for at få yderligere oplysninger.

[†] Indeholder natriumazid som konserveringsmiddel.

[§] Genoplæmningsvolumen 1,2 ml. Se "Klargøring af reagenser og buffere" på side 22.

Sættets komponenter

Hovedkomponenterne i kittet med de aktive stoffer er forklaret nedenfor.

Reagens	Aktive stoffer	Koncentration (w/w) [%]
QIAGEN-protease	Subtilisin	≥0 til ≤100
AL	Guanidinhydrochlorid Maleinsyre	≥30 til <50 ≥0,1 til <1
AW1	Guanidinhydrochlorid	≥50 til <70

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Yderligere reagenser

- Ethanol (96-100 %)*

Forbrugsartikler

- Pipetter[†] og pipettespidser (for at forhindre krydskontaminering anbefaler vi på det kraftigste at anvende pipettespidser med aerosolskærme)
- Engangshandsker

Udstyr

- Varmeblok[†] til lysis af prøver ved 56 °C (for 1,5 ml mikroprøverør)
- Mikrocentrifuge[†]
- Målecylinder (50 ml)
- Vortexer

Kun til vakuumproceduren

- QIAvac 24 Plus Plus vacuum system (kat.-nr. 19413) eller tilsvarende[†]
- VacValves (kat.-nr. 19408)
- QIAvac Connecting System (kat.-nr. 19419)
- Vacuum Pump (kat.-nr. 84020)
- Vacuum Regulator (kat.-nr. 19530)

* Der må ikke bruges denatureret alkohol, som indeholder andre stoffer, såsom metanol eller methylethylketon.

[†] For at sikre, at prøverne er behandlet korrekt i QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurene, anbefaler vi på det kraftigste, at instrumenter (f.eks. pipetter og varmeblokke) kontrolleres og kalibreres i henhold til producentens anbefalinger.

Kun til den automatiske procedure

- QIAcube Connect MDx-instrument (kat.-nr. 9003070) *
- Rotor Adapters (kat.-nr. 990394)
- Rotor Adapter Holder (kat.-nr. 990392)
- Sample Tubes CB (kat.-nr. 990382; prøveoverførselsrør)
- Shaker Rack Plugs (kat.-nr. 9017854)
- Reagent Bottles, 30 ml (kat.-nr. 990393)
- Filter Tips, 1000 μ l (kat.-nr. 990352)
- Filter Tips, 200 μ l (kat.-nr. 990332)
- SafeSeal Tube, 1,5 ml (Sarstedt®, kat.-nr. 72.706)

* For at sikre, at prøverne er behandlet korrekt i QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurene, anbefaler vi på det kraftigste, at instrumenter (f.eks. pipetter og varmeblokke) kontrolleres og kalibreres i henhold til producentens anbefalinger.

Advarsler og forholdsregler

Bemærk: Alvorlige hændelser med relation til brugen af udstyret skal muligvis rapporteres til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant samt den ansvarlige myndighed i det land, hvor brugeren og/eller patienten befinder sig.

Til in vitro-diagnostisk brug.

Læs alle anvisninger omhyggeligt før anvendelse af dette kit.

Sikkerhedsinformation

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for yderligere information. Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen www.qiagen.com/safety, hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN-kit og alle kitkomponenter.

FORSIGTIG



Der må IKKE tilsættes blegemiddel eller syreholdige opløsninger direkte i affaldet fra klargøringen af prøven.

- Lysisbuffer (AL) og vaskebuffer 1 (AW1) indeholder guanidinhydrochlorid, som kan danne højreaktive forbindelser, når de kombineres med blegemiddel. Hvis væske, der indeholder disse buffere, spildes, rengøres med egnet rengøringsmiddel til laboratorier og vand. Hvis den spildte væske indeholder potentielt smittefarlige stoffer, rengøres det påvirkede område først med rengøringsmiddel til laboratorier og vand og dernæst med 1 % (v/v) natriumhypochlorit. Hvis bufferflaskerne er beskadigede eller lækker, bæres der handsker og beskyttelsesbriller, når flaskerne bortskaffes for at undgå personskade eller skade på andre.

- QIAGEN har ikke testet det flydende affald, der genereres af QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurer mht. resterende infektiøse materialer. Kontaminering af det flydende affald med resterende infektiøse materialer er usandsynligt, men kan ikke helt udelukkes. Derfor skal flydende affald betragtes som infektiøst og håndteres og bortskaffes i henhold til lokale sikkerhedsbestemmelser.
- Prøverne kan være smittefarlige. Prøve- og analyseaffald skal bortskaffes i henhold til lokale sikkerhedsprocedurer.

Oplysninger til brug i nødstilfælde

CHEMTREC

USA og Canada 1-800-424-9300

Uden for USA og Canada +1 703-527-3887

Forholdsregler

De følgende risiko- og sikkerhedssætninger gælder for komponenter af QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Buffer AL



Indeholder: guanidinhydrochlorid og maleinsyre. Advarsel! Kan være skadelig ved indtagelse eller ved indånding. Forårsager hudirritation. Kan forårsage allergisk hudreaktion. Forårsager alvorlig øjenirritation. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse. Ring til en GIFTINFORMATION eller en læge, hvis du er utilpas. Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. Forurenede tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. Bortskaf indholdet/beholderen på et godkendt genbrugssted.

Buffer AW1



Indeholder: guanidinhydrochlorid. Advarsel! Skadelig ved indtagelse eller ved indånding. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse. Forurenede tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. Bortskaf indholdet/beholderen på et godkendt genbrugssted.

QIAGEN-protease



Indeholder: subtilisin. Fare! Farlig ved indtagelse. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenskade. Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. Kan forårsage åndedrætsbesvær. Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. Bær beskyttelsehandsker/ beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. Anvend åndedrætsværn. VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis det kan gøres let. Fortsæt med at skylle. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Ring straks til GIFTLINJEN, eller søg læge. Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vedkommende hviler i en stilling, som letter vejtrækningen.

Bortskaffelse

Affaldet indeholder prøver og reagenser. Dette affald kan indeholde toksisk eller smittefarligt materiale og skal bortskaffes på korrekt vis. Der henvises til de lokale sikkerhedsbestemmelser for korrekte bortskaffelsesprocedurer.

Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for yderligere information. De findes online i PDF-format på www.qiagen.com/safety, hvor sikkerhedsdatabladene for hvert QIAGEN-kit og hver kit-komponent kan læses og udskrives.

Opbevaring og håndtering af reagenser

Vær opmærksom på de udløbsdatoer og opbevaringsbetingelser, der er trykt på æsken og på etiketterne til samtlige komponenter. Brug aldrig for gamle eller ukorrekt opbevarede komponenter.

QIAamp Mini-spin-kolonner bør opbevares ved temperaturer på 2-8 °C efter modtagelse, og de kan bruges indtil udløbsdatoen på kittets kasse.

Bemærk: For at sikre, at kitkomponenter fra forskellige kits ikke blandes, bedes du mærke QIAamp Mini-spin-kolonnerne med det respektive kitlotnummer.

Alle buffere kan opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) indtil udløbsdatoen på kittets kasse.

Lyofiliseret QIAGEN Protease (QP) kan opbevares ved stuetemperatur (15-25 °C) indtil kittets udløbsdato uden at påvirke dens ydelse.

Stabilitet under brug

Rekonstitueret QIAGEN Protease (QP) er stabilt i op til 1 år, når det opbevares ved temperaturer på 2-8 °C, men kun indtil kittets udløbsdato. Det skal undgås at opbevare QIAGEN Protease (QP)-stamopløsning ved stuetemperatur i længere tidsperioder.

Rekonstitueret vaskebuffer 1 (AW1) og rekonstitueret vaskebuffer 2 (AW2) er stabile i 1 år, når opbevaret ved stuetemperatur (15-25 °C), men kun indtil kittets udløbsdato.

Ved klargøring af buffere til den automatiske procedure skal du følge instruktionerne i *Brugervejledningen til QIAcube Connect MDx* (på listen over laboratorieartikler på fanen Resource på siden Product på www.qiagen.com).

Prøvetagning, -opbevaring og -håndtering

Bemærk: Prøvestabilitet afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Den er blevet vurderet i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at konsultere brugsanvisningen til den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i laboratoriet, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

Vedrørende generel indsamling, transport og opbevaring henvises til godkendte CLSI-retningslinje MM13-A "Indsamling, transport, forberedelse og opbevaring af prøver til molekylære metoder". Desuden skal producentens instruktioner for den valgte prøvetagningsanordning følges under klargøring, opbevaring, transport og generel håndtering af prøver. Uafhængigt af blodprøvetagningsrørproducentens instruktioner bør ISO 20186-2:2019 (E) overvejes for genomisk DNA-ekstraktion fra venøst helblod.

Bemærk: Ifølge ISO 20186-2:2019(E) kan heparin fra blodprøvetagningsrør påvirke renheden af de isolerede nukleinsyrer, og eventuel overførsel til eluater kan forårsage hæmninger i nogle efterfølgende anvendelser. Derfor anbefaler vi brug af blodprøver, der er behandlet med EDTA eller citrat som antikoagulant.

Brug helblodsprøver i primære prøverør, bland blodprøverne grundigt (f.eks. ved at vende rørene på hovedet flere gange) inden prøveoverførsel. Frosne prøver (med maksimalt 3 frysetø-cykler) skal optøs hurtigt i vandbad på 37 °C under let omrøring for at sikre, at de blandes grundigt, og dernæst skal man lade dem opnå stuetemperatur (15-25 °C), inden man påbegynder proceduren. Der må ikke anvendes blodprøver, som har været frosset og optøet mere end 3 gange. For at sikre pålidelig prøveoverførsel skal man undgå, at der opstår skum i prøverørene. Undgå så vidt muligt blodkoageler i prøven, og overfør prøven uden koageler. Kryopræcipitater, der dannes under optøning af frosne prøver, vil tilstoppe membranen på QIAamp Mini-spin-kolonnen eller kan hæmme den automatiserede procedure på QIAcube Connect MDx. Hvis kryopræcipitater er synlige, skal man undgå at aspirere dem.

Det oprensede DNAs udbytte og kvalitet afhænger af blodets opbevaringsforhold. Friskere blodprøver kan give bedre resultater. Ved korttidsopbevaring (op til 10 dage) anbefaler vi opbevaring ved 2-8 °C. Ved anvendelser, der kræver maksimal fragmentstørrelse, såsom southern-blotting, anbefales dog kun opbevaring ved 2-8 °C i op til 3 dage, idet små niveauer af DNA-nedbrydning vil indtræffe efter dette tidspunkt. Ved langtidsopbevaring tappes blod i rør (over 10 dage), der indeholder en standardkoagulan (fortrinsvis EDTA, hvis der kræves højmolekylært DNA), og rørene opbevares ved -20 °C eller -80 °C.

Vigtige bemærkninger

Vigtige punkter, før en protokol startes

- Når du har modtaget kittet, kontrolleres kittets komponenter for beskadigelse. Hvis blisterpakningerne eller bufferflaskerne er beskadigede, kontaktes QIAGEN Teknisk Service eller den lokale forhandler. I tilfælde af væskespild henvises til "Sikkerhedsinformation" (side 15). Der må ikke anvendes beskadigede kitkomponenter, eftersom deres anvendelse kan føre til ringe ydeevne af kittet.
- Udskift altid pipettespidser mellem væskeoverførsler. For at minimere krydskontaminering anbefaler vi anvendelse af pipettespidser med aerosolskærme.
- Anvend altid engangshandsker under hele proceduren, og tjek regelmæssigt, at de ikke er kontamineret med prøvemateriale. Bortskaf handsker, hvis de bliver kontaminede.
- For at minimere krydskontaminering åbnes der kun ét rør ad gangen.
- Efter alle puls-vortex-trinene centrifugeres mikrocentrifugerørene kortvarigt for at fjerne dråber fra lågenes inderside. Brugeren skal sikre, at sporbarheden af prøverne bevares under hele proceduren.
- Alle centrifugeringstrin udføres ved stuetemperatur (15-25°C).
- Anvend ikke kitkomponenter fra andre kits sammen med det kit, som du i øjeblikket anvender, medmindre lotnumrene er identiske.
- Undgå, at kitreagenserne udsættes for bakteriekontaminering.
- For at minimere risikoen for infektion fra potentielt infektiøst materiale, anbefaler vi at arbejde under laminare luftstrømsforhold, indtil prøverne er lyserede.
- Dette kit bør kun anvendes af personale, der er uddannet i in vitro-diagnostisk laboratoriepraksis.

Klargøring af reagenser og buffere

- Klargøring af QIAGEN Protease

Tilsæt 1,2 ml proteaseopløsningsmiddel (PS) i hætteglasset med frysetørret QIAGEN Protease (QP) og bland det grundigt. For at undgå, at det skummer, blandes det ved at vende hætteglasset på hovedet adskillige gange. Sørg for, at QIAGEN Protease (QP) er fuldstændigt opløst.

Vigtigt: Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL).

- Forberedelse af vaskebuffer 1

Vha. en målecylinder tilsættes 25 ml ethanol (96-100 %) til flasken med 19 ml vaskebuffer 1 (AW1)-koncentrat. Opbevar den rekonstituerede vaskebuffer 1 (AW1) ved stuetemperatur (15-25 °C).

Vigtigt: Bland altid den rekonstituerede vaskebuffer 1 (AW1) ved at vende flasken på hovedet adskillige gange, før proceduren startes.

- Forberedelse af vaskebuffer 2

Vha. en målecylinder tilsættes 30 ml ethanol (96-100 %) til flasken med 13 ml vaskebuffer 2 (AW2)-koncentrat. Opbevar den rekonstituerede vaskebuffer 2 (AW2) ved stuetemperatur (15-25 °C).

Vigtigt: Bland altid den rekonstituerede vaskebuffer 2 (AW2) ved at vende flasken på hovedet adskillige gange, før proceduren startes.

- Forberedelse af elueringsbuffer

En flaske elueringsbuffer (AE) er inkluderet i kittet. For at forhindre kontaminering af elueringsbuffer (AE) anbefaler vi på det kraftigste at anvende pipettespidser med aerosolskærme, når der pipetteres elueringsbuffer (AE) fra flasken og straks herefter at sætte hættten på flasken igen.

Vigtigt: Elueringsbuffer (AE) indeholder konserveringsmidlet natriumazid, som viser absorptions ved 260 nm. Når DNA kvantificeres i eluatet ved absorptionsmåling på 260 nm, når DNA'ens renhed bestemmes i eluatet ved absorptionsmålinger ved 260 nm og 280 nm, eller når absorptions scannes i området mellem 220 nm og 350 nm, sørges der for, at den tomme prøve indeholder den samme koncentration af natriumazid som eluatet. Hvis eluatet til absorptionsmålinger for eksempel forberedes ved at fortynde 50 µl eluat med 100 µl vand, så forberedes den tomme prøve ved at fortynde 50 µl elueringsbuffer (AE) med 100 µl vand. Anvend frisk, destilleret vand til fortyndingerne.

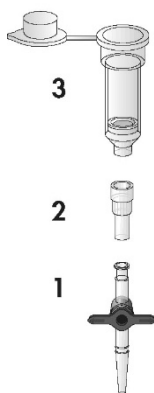
Behandling af QIAamp Mini-spin-kolonner

På grund af nukleinsyre-amplifikationsmetodernes høje sensitivitet skal følgende forholdsregler overholdes, når der håndteres QIAamp Mini-spin-kolonner for at undgå krydskontaminering mellem klargøringer af prøver:

- Tilsæt forsigtigt prøven eller opløsningen i QIAamp Mini-spin-kolonnen. Pipetter prøven i QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at gøre kolonnens kant våd.
- Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonnemembranen med pipettespidsen.
- Åbn kun én QIAamp Mini-spin-kolonne ad gangen, og vær omhyggelig med at undgå aerosoldannelse.

Opsætning af QIAvac 24 Plus-vakuumsystem

Sørg for, at du opsætter QIAamp Mini-spin-kolonnen, VacConnector (VC) og VacValve korrekt (se figur 2).



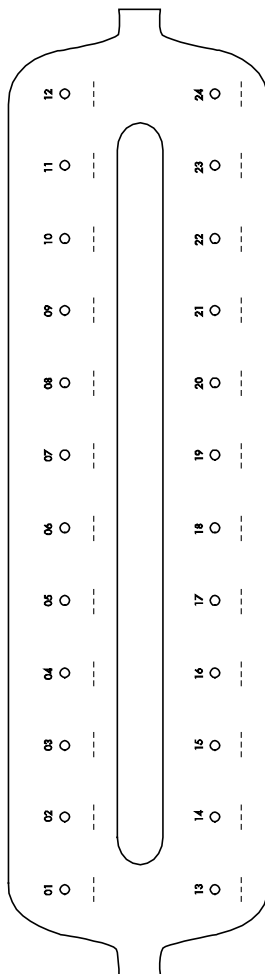
Figur 2. Samling af komponenterne til QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit til vakuumbehandling af prøver. (1) VacValve, (2) VacConnector (VC) og (3) QIAamp Mini-spin-kolonne.

Hvis vakuumpceduren anvendes sammen med QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet, anbefaler vi at etikettere lysisrør (LT), elueringsrør (ET) og QIAamp Mini-spin-kolonnerne i henhold til oversigten på figur 3 (se næste side) for at undgå forveksling af prøver. Denne figur kan fotokopieres og mærkes med navnene på prøverne. Vi anbefaler at anvende en lignende oversigt, hvis andre vakuumsystemer anvendes, eller hvis der anvendes centrifugering.

Dato: _____

Bruger: _____

Kørsels-ID: _____



Figur 3. Etikettersigt over lysisrør (LT), elueringsrør (ET) og QIAamp Mini-spin-kolonner til anvendelse på QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet.

Procedure

Protokol: Isolering og oprensning af genomisk DNA fra blodprøver vha. en mikrocentrifuge/automatisk oprensning på QIAcube Connect MDx

Til isolering og oprensning af genomisk DNA fra 200 µl-helblodsprøver behandlet med EDTA eller citrat vha. en mikrocentrifuge eller automatisk på QIAcube Connect MDx.

Vigtige anvisninger før start

- Proceduren nedenfor giver anvisninger på behandlingen af en enkelt blodprøve. Adskillige prøver kan imidlertid blive behandlet samtidigt, men antallet afhænger af den anvendte mikrocentrifuges kapacitet.
- Automatisk behandling af 2-10 eller 12 prøver kan udføres på QIAcube Connect MDx-instrumentet.
- Ved automatisering skal du følge instruktionerne i brugergrensefladen (QIAcube Connect MDx) og læse oplysningerne i *Brugervejledningen QIAcube Connect MDx* (på listen over laboratorieartikler på fanen Resource på siden Product på www.qiagen.com).





Ting, der skal gøres før start

- Ækvilibrér blodprøver til stuetemperatur, og sørg for, at de er blandet godt.
- Sørg for, at alle reagenser og QIAamp Mini-spin-kolonnerne (i lukkede blisterpakker) ækvilibreres til stuetemperatur.
- Indstil en varmeblok til 56 °C til anvendelse i trin 4 (påkrævet for manuel procedure og automatiseret procedure med manuel lysis uden for instrumentet).
- Sørg for, at vaskebuffer 1 (AW1), vaskebuffer 2 (AW2) og QIAGEN Protease (QP) er blevet klargjort i henhold til anvisningerne i "Klargøring af reagenser og buffere" på side 22.

- Hvis der har dannet sig bundfald i lysisbuffer (AL), opløses det ved inkubering ved 56 °C.
- Kvalitetskontrolprocedurer hos QIAGEN anvender test af funktionel kit-frigivelse for hvert individuelle kit-lot. Derfor må der ikke blandes reagenser fra forskellige kit-lots, og der må ikke kombineres individuelle reagenser fra forskellige reagens-lots.

Procedure

- Følg trinnene 1-15 i forbindelse med manuel procedure med en mikrocentrifuge.
 - Denne procedure kan automatiseres i 3 forskellige versioner:
 - Elueringsmængde: 100 µl fuldt automatiseret (automatisering startende fra trin 1)
 - Elueringsmængde: 200 µl fuldt automatiseret (automatisering startende fra trin 1)
 - Manuel lyse: delvis automatiseret med manuel lysis uden for instrumentet og elueringsmængder på 100-200 µl i trin på 10 µl (automatisering starter efter trin 5)
1. Pipetter 20 µl QIAGEN-protease (QP) i et lysisrør (LT).
 - ① Kontrollér udløbsdatoen på det rekonstituerede protease før anvendelse.
 2. Tilsæt 200 µl blodprøve i lysisrøret (LT).
 3. Tilsæt 200 µl lysisbuffer (AL) i lysisrøret (LT), luk låget, og bland ved at puls-vortexe i ≥15 sek.
 - ① For at sikre effektiv lysering, er det væsentligt, at prøven og lysisbuffer (AL) blandes grundigt for at give en homogen opløsning.
 - ① Da lysisbuffer (AL) har en høj viskositet, sørges der for, at det korrekte volumen lysisbuffer (AL) tilsættes ved nøje pipettering og ved hjælp af en egnet pipette.
 - ① Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL).
 4. Inkuber ved 56 °C i 10 min.

5. Centrifuger lysisrør (LT) i ≥ 5 sekunder ved fuld hastighed for at fjerne dråber fra den indvendige side af låget.
 -  Hvis der blev foretaget manuel lysis (trin 1-5) uden for instrumentet, kan følgende trin (trin 6-15) automatiseres på QIAcube Connect MDx ved hjælp af protokollen for manuel lysis.
6. Tilsæt 200 μ l ethanol (96-100 %) i lysisrøret (LT), luk låget, og bland grundigt ved at puls-vortexe i ≥ 15 sek.
7. Centrifuger lysisrør (LT) i ≥ 5 sekunder ved fuld hastighed for at fjerne dråber fra den indvendige side af låget.
8. Tilsæt forsigtigt hele lysatet fra trin 7 til QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen.
 -  Hvis adskillige prøver behandles, åbnes kun ét lysisrør (LT) ad gangen.
9. Luk låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen, og centrifuger ved ca. 6000 x g i 1 min. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent vaskerør (WT), og bortskaf røret med filtratet.
 -  Hvis lysatet ikke er passeret helt igennem membranen efter centrifugeringen ved 6000 x g (8000 omdr./min.), centrifugeres igen ved fuld hastighed (op til 20.800 x g) i 1 minut.
 -  Hvis lysatet stadig ikke er passeret gennem membranen under centrifugering, bortskaffes prøven, og isolation og oprensning gentages med nyt prøvemateriale ved at begynde med trin 1 på side 27.
10. Åbn forsigtig QIAamp Mini-spin-kolonnen, og tilsæt 500 μ l vaskebuffer 1 (AW1) uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen.
11. Luk låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen, og centrifuger ved ca. 6000 x g i 1 min. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent vaskerør (WT), og bortskaf røret med filtratet.
12. Åbn forsigtig QIAamp Mini-spin-kolonnen, og tilsæt 500 μ l vaskebuffer 2 (AW2) uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen.

13. Luk låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen, og centrifugér ved fuld hastighed (ca. 20.000 x g (14.000 omdr./min.)) i 1 min. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent vaskerør (WT), og kassér røret med filtratet.

Centrifugér ved fuld hastighed (ca. 20.000 x g eller 14.000 omdr./min.) i 3 min. for at tørre membranen helt.

i Undlades tørrecentrifugeringen kan det føre til hæmning af den efterfølgende analyse.

14. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et nyt elueringsrør (ET), og kassér vaskerøret (WT) med filtratet. Åbn låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen forsigtigt, og tilsæt 50 til 200 µl elueringsbuffer (AE) på midten af membranen.

i Det er vigtigt at bruge et nyt elueringsrør for at undgå kontaminering med resterende vaskebuffer, der kan føre til hæmning af den efterfølgende analyse.

i Dispensering af elueringsbufferen (AE) på midten af membranen er især vigtig ved mindre elueringsmængder for at sikre optimal genvinding af nukleinsyrer og elueringsbuffer (AE).

15. Luk låget, og inkubér ved stuetemperatur i 1 min. Centrifugér ved ca. 6000 x g (8000 omdr./min.) i 1 min. for at eluere DNA'en.

i Vend lågene på elueringsrørene, så de peger i modsat retning af rotorens rotation (hvis rotoren f.eks. drejer med uret, vendes lågene mod uret).

i Ved alle automatiske procedurer skal eluater fjernes fra instrumentet lige efter afslutningen af kørslen, og de skal opbevares korrekt.

Protokol: Isolering og oprensning af genomisk DNA fra blodprøver vha. et vakuumsystem

Til isolering og oprensning af genomisk DNA fra 200 µl helblodsprøver behandlet med EDTA eller citrat vha. et vakuumsystem såsom QIAvac 24 Plus-vakuumsystem.

Vigtigt punkt før start

Proceduren nedenfor giver anvisninger på behandlingen af en enkelt blodprøve. Op til 24 prøver kan imidlertid behandles samtidigt på QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet.

Ting, der skal gøres før start

- Ækvilibrér blodprøver til stuetemperatur, og sørg for, at de er blandet godt.
- Sørg for, at alle reagenser og QIAamp Mini-spin-kolonnerne (i lukkede blisterpakker) ækvilibreres til stuetemperatur.
- Indstil en varmeblok til 56 °C til anvendelse i trin 4.
- Sørg for, at vaskebuffer 1 (AW1), vaskebuffer 2 (AW2) og QIAGEN Protease (QP) er blevet klargjort i henhold til anvisningerne i "Klargøring af reagenser og buffere" på side 22.
- Hvis der har dannet sig bundfald i lysisbuffer (AL), opløses det ved inkubering ved 56 °C.
- For at undgå krydskontaminering indsættes en VacConnector (VC) på hver lueradapter på vakuumsystemet.
- Sørg for, at affaldsflasken på vakuumsystemet er tom, og at alle koblinger er forbundet korrekt.
- Se den vedlagte håndbog for at få yderligere oplysninger om vakuumsystemets drift, særligt vedligeholdelse.
- Kvalitetskontrolprocedurer hos QIAGEN anvender test af funktional kit-frigivelse for hvert individuelle kit-lot. Derfor må der ikke blandes reagenser fra forskellige kit-lots, og der må ikke kombineres individuelle reagenser fra forskellige reagens-lots.

Procedure

1. Pipetter 20 µl QIAGEN Protease (QP) i et lysisrør (LT).
 - ⓘ Kontrollér udløbsdatoen på det rekonstituerede protease før anvendelse.
2. Tilsæt 200 µl blodprøve til lysisrør (LT).
3. Tilsæt 200 µl lysisbuffer (AL) i lysisrøret (LT), luk låget, og bland ved at puls-vortexe i ≥ 15 sek.
 - ⓘ For at sikre effektiv lysering er det væsentligt, at prøven og lysisbuffer (AL) blandes grundigt for at give en homogen opløsning.
 - ⓘ Da lysisbuffer (AL) har en høj viskositet, sørges der for, at det korrekte volumen lysisbuffer (AL) tilsættes ved nøje pipettering og ved hjælp af en egnet pipette.
 - ⓘ Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL).
4. Inkuber ved 56 °C i 10 min.
5. Centrifuger lysisrøret (LT) i ≥ 5 sek. ved fuld hastighed for at fjerne dråber fra den indvendige side af låget.
6. Tilsæt 200 µl ethanol (96-100%) til lysisrøret (LT), luk låget og bland grundigt ved at puls-vortexe i ≥ 15 sekunder.
7. Centrifuger lysisrøret (LT) i ≥ 5 sek. ved fuld hastighed for at fjerne dråber fra den indvendige side af låget.
8. Indsæt QIAamp Mini-spin-kolonnen i VacConnector (VC) på vakuumsystemet. Sørg for, at den primære vakuumventil (mellem vakuumsystemet og vakuummanifold) og ventilen med skruelåg (på vakuummanifold) er lukkede. Tænd for vakuumpumpen.

Bortskaf vaskerøret (WT) (2 ml), hvor QIAamp Mini-spin-kolonnen er placeret i blisteret. Der påføres kun vakuum til det forbundne system (hvis det anvendes) og ikke til vakuummanifold.
9. Tilsæt forsigtigt hele lysatet fra trin 7 til QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen.

i Hvis adskillige prøver behandles, åbnes kun ét lysisrør (LT) ad gangen.

10. Åbn den primære vakuumventil. Efter lysatet er trukket gennem QIAamp Mini-spin-kolonnen, lukkes den primære vakuumventil, og ventilen med skruelåg åbnes på vakuummanifold for at ventilere manifolden. Luk for ventilen med skruelåg efter vakuum frigives fra manifold.

Efter den primære vakuumventil lukkes, påføres der kun vakuum til det forbundne system (hvis det anvendes) og ikke til vakuummanifold.

i Brug ventilen med skruelåg på vakuummanifold til en hurtig frigivelse af vakuum.

i Hvis der behandles flere QIAamp Mini-spin-kolonner samtidig, anbefaler vi at lukke VacValve på hver kolonne, når lysatet er passeret igennem for at kunne reducere varigheden af dette vakuumtrin.


i Hvis lysatet ikke er passeret helt igennem membranen efter 10 min., anbringes QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent vaskerør (WT), låget lukkes, og den centrifugeres ved ca. 6000 x g (8000 omdr./min.) i 3 min., eller indtil lysatet er passeret helt igennem. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et andet ret vaskerør (WT), og fortsæt med trin 10 i protokollen på side 32.

i Hvis lysatet stadig ikke er passeret gennem membranen under centrifugering, bortskaffes prøven, og isolation og oprensning gentages med nyt prøvemateriale ved at begynde med trin 1 på side 31.


11. Tilsæt 750 µl vaskebuffer 1 (AW1) i QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonmembranen med pipettespidsen. Lad låget på kolonnen være åben, og åbn for den primære vakuumventil. Efter vaskebuffer 1 (AW1) er trukket gennem QIAamp Mini-spin-kolonnen, lukkes den primære vakuumventil, og ventilen med skruelåg åbnes for at ventilere manifold. Luk for ventilen med skruelåg efter vakuum frigives fra manifold.


12. Tilsæt 750 µl vaskebuffer 2 (AW2) i QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at gøre kanten våd. Undgå at røre QIAamp Mini-spin-kolonnemembranen med pipettespidsen. Lad låget på kolonnen være åben, og åbn for den primære vakuumventil. Efter vaskebuffer 2 (AW2) er trukket gennem QIAamp Mini-spin-kolonnen, lukkes den primære vakuumventil, og ventilen med skruelåg åbnes for at ventilere manifold. Luk for ventilen med skruelåg efter vakuum frigives fra manifold.

13. Luk låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen, fjern den fra vakuumsystemet, og bortskaf VacConnector (VC). Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et rent vaskerør (WT), og centrifugér ved fuld hastighed (ca. 20.000 x g eller 14.000 omdr./min.) i 3 min. for at tørre membranen helt.


 Undlades tørrecentrifugeringen kan det føre til hæmning af den efterfølgende analyse.


14. Anbring QIAamp Mini-spin-kolonnen i et nyt elueringsrør (ET), og kassér vaskerøret (WT) med filtratet. Åbn låget på QIAamp Mini-spin-kolonnen forsigtigt, og tilsæt 50 til 200 µl elueringsbuffer (AE) i midten af membranen.

 Det er vigtigt at bruge et nyt elueringsrør (ET) for at undgå kontaminering med resterende vaskebuffer, der kan føre til hæmning af den efterfølgende analyse.

 Dispensering af elueringsbufferen (AE) på midten af membranen er især vigtig ved mindre elueringsmængder for at sikre optimal genvinding af nukleinsyrer og elueringsbuffer (AE).

15. Luk låget, og inkubér ved stuetemperatur i 1 min. Centrifugér ved 6000 x g (8000 omdr./min.) i 1 min. for at eluere DNA'en.

 Vend lågene på elueringsrørene (ET), så de peger i modsat retning af rotorens rotation (hvis rotoren f.eks. drejer med uret, vendes lågene mod uret).

 Følg vedligeholdelsesproceduren for vakuumsystemet efter udførelse af denne protokol (se håndbogen, der var vedlagt vakuumsystemet for yderligere oplysninger).

Kvalitetskontrol

I henhold til QIAGEN's ISO-certificerede totale kvalitetsbehandlingsystem testes hvert lot QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit mod forudbestemte specifikationer for at sikre konstant produktkvalitet.

Begrænsninger

Systemets ydeevne er blevet fastlagt ved at anvende helblod til isolation af genomisk DNA.

Der findes oplysninger om brug af QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit i afsnittet "Beskrivelse og princip". Den automatiserede procedure er beskrevet i afsnittet "Protokol: Isolering og oprensning af genomisk DNA fra blodprøver vha. en mikrocentrifuge/automatisk oprensning på QIAcube Connect MDx".

Det er brugerens ansvar at kontrollere systemets egnethed til eventuelle procedurer, der udføres i laboratoriet og ikke er omfattet af QIAGENs ydelsesundersøgelser.

For at minimere risikoen for en negativ indvirkning på diagnostiske resultater skal der anvendes hensigtsmæssige kontroller for efterfølgende anvendelser. For yderligere validering anbefales retningslinjerne i "International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) i ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology".

De fremkomne diagnostiske resultater skal fortolkes i forbindelse med andre kliniske fund eller laboratoriefund.

Ydelseskarakteristika

De relevante ydelseskarakteristika kan findes på fanen Resource på siden Product på www.qiagen.com.

Fejlfindingsvejledning

Denne fejlfindingsvejledning kan være nyttig til at afhjælpe eventuelle problemer. For yderligere information henvises også til siden med hyppigt stillede spørgsmål (Frequently Asked Questions, FAQ) hos vores tekniske supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Derudover svarer personalet fra QIAGEN Teknisk Service gerne på spørgsmål vedrørende enten informationen og/eller protokollerne i denne håndbog eller prøve- og analyseteknologier (kontaktinformation: Besøg www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Generel håndtering

- a) Tilstopning af pipettespidser under prøveoverførsel
- Bland blodprøverne grundigt (f.eks. ved at vende rørene på hovedet flere gange) inden prøveoverførsel. Frosne prøver skal optøs hurtigt i vandbad på 37 °C under let omrøring for at sikre, at de blandes grundigt, og dernæst skal man lade dem opnå stuetemperatur (15-25°C), inden man påbegynder proceduren.
- Undgå så vidt muligt blodkoageler i prøven, og overfør prøven uden koageler. Kryopræcipitater, der dannes under optøning af frosne prøver, vil tilstoppe membranen på QIAamp Mini-spin-kolonnen eller kan føre til problemer under den automatiserede procedure.
- b) QIAamp Mini-spin-kolonnen er tilstoppet
- Centrifugeringsarbejdsgang:
- Hvis lysatet ikke er passeret helt igennem membranen efter centrifugeringen ved 6000 x g (8000 omdr./min.), centrifugeres igen ved fuld hastighed (op til 20.800 x g) i 1 minut.
- Hvis lysatet stadig ikke er passeret gennem membranen under centrifugeringen, bortskaffes prøven, og isolation og oprensning gentages med nyt prøvemateriale ved at begynde med trin 1 på side .
- Vakuumarbejdsgang:
- Hvis flowhastigheden reduceres, kan det forlænge vakuumtiden.
- Alternativt skal du lukke VacValve, hvis den anvendes, og forsigtigt fjerne VacConnector–VacValve-enheden fra QIAamp Mini-spin-kolonnen uden at miste noget af lysatet.
- Tag QIAamp Mini-spin-kolonnen ud fra vakuumanifolden, anbring den i et 2 ml vaskerør, og centrifuger den på fuld hastighed, indtil prøven er passeret fuldstændigt gennem membranen. Udskift den VacConnector–VacValve-enhed, der indeholder det resterende lysat. Tænd vakuumpumpen, åbn VacValve, og fortsæt isætning af det resterende lysat.
- Gentag ovenstående procedure, hvis QIAamp Mini-spin-kolonnen begynder at tilstoppe.
- Hvis lysatet stadig ikke er passeret gennem membranen under centrifugeringen, bortskaffes prøven, og isolation og oprensning gentages med nyt prøvemateriale ved at begynde med trin 1 på side .

Kommentarer og forslag

Generelle oplysninger

Der kan være dannet kryopræcipitater grundet gentagen nedfrysning og optøning. Disse kan blokere QIAamp Mini-spin-kolonnen. Der må ikke anvendes blodprøver, som har været frosset og optøet mere end 3 gange. Frosne prøver skal optøes hurtigt i vandbad på 37 °C under let omrøring for at sikre, at de blandes grundigt, og dernæst skal man lade dem opnå stuetemperatur (15-25°C), inden man påbegynder proceduren.

- c) Der er dannet bundfald i lysisbuffer (AL)
- Opløses ved inkubering af lysisbuffer (AL) ved 56 °C.
- d) Variable elueringsmængder
- Mængden af genfundet eluat afhænger af prøvens beskaffenhed. På grund af den resterende elueringsbuffer (AE), der tilbageholdes af spin-kolonnemembranen efter centrifugering, kan den genvundne eluatmængde være lavere end mængden af påført elueringsbuffer på kolonnen. Påfør elueringsbuffer (AE) midt på membranen. Dispensering af elueringsbufferen (AE) på midten af membranen er især vigtig ved mindre elueringsmængder for at sikre optimal genvinding af nukleinsyrer og elueringsbuffer (AE).
- e) Vakuumtrykket på ca. 800-900 bar er ikke opnået
- Vakuumanifolden er ikke lukket stramt nok. Tryk ned på vakuumanifoldens låg, efter at vakuumet er slået til. Kontrollér, om vakuumtrykket er opnået. Pakning på QIAvac-låg er slidt op. Kontrollér pakningen på manifolden visuelt, og udskift den eventuelt.
- VacValves er slidt op. Fjern alle VacValves, og isæt VacConnectors (VC) direkte i luer-forlængerne. Sæt QIAamp Mini-spin-kolonner i VacConnectors (VC), luk låget på kolonnerne, og tilslut vakuum. Kontrollér, om vakuumtrykket er opnået. Udskift om nødvendigt VacValves.
- Forbindelsen til vakuumpumpen er utæt. Luk alle luer-forlængere med luer-hætter, og tænd vakuumpumpen. Kontrollér, om vakuumtrykket er stabilt, når pumpen er tændt (og ventilen på Vacuum Regulator er lukket). Udskift om nødvendigt forbindelserne mellem pumpe og vakuumanifold.
- Hvis vakuumtrykket stadig ikke er opnået, skal vakuumpumpen udskiftes med en kraftigere type.
- f) Vedrørende problemer i den automatiserede arbejdsgang
- henvises til *brugervejledningen til QIAcube Connect MDx* (på listen over laboratorieartikler på fanen Resource på siden Product på www.qiagen.com).

Lavt DNA-udbytte

- a) Ufuldstændig prøvelysis
- Hvis QIAGEN Protease (QP) har været udsat for forhøjet temperatur i længere tid, kan det miste aktivitet. Gentag proceduren med nye prøver og nyt QIAGEN Protease (QP).
- Sørg for at opløse QIAGEN Protease (QP) med proteaseopløsningsmiddel (PS) i henhold til anvisningerne ovenfor. For at undgå, at det skummer, blandes det ved at vende hætteglasset på hovedet adskillige gange. Sørg for, at QIAGEN Protease (QP) er fuldstændigt opløst. Tilsæt ikke QIAGEN Protease (QP) direkte til lysisbuffer (AL).

Kommentarer og forslag

For at sikre effektiv lysering er det væsentligt, at prøven og lysisbuffer (AL) blandes grundigt for at give en homogen opløsning. Da lysisbuffer (AL) har en høj viskositet, sørges der for, at det korrekte volumen lysisbuffer (AL) tilsættes ved nøje pipettering og ved hjælp af en egnet pipette.

- | | | |
|----|---|---|
| b) | Der er anvendt ethanol med procent frem for 96-100% | Gentag oprensingsproceduren med nye prøver og 96-100 % ethanol. Der må ikke bruges denatureret alkohol, som indeholder andre stoffer, såsom metanol eller methylethylketon. |
| c) | Buffer AW1 eller Buffer AW2 er klargjort forkert | Sørg for, at Buffer AW1- og Buffer AW2-koncentraterne er fortyndet med den korrekte mængde 96-100 % ethanol og blandet ved at vende flasken på hovedet adskillige gange, før proceduren startes. |
| d) | Blodprøverne har ikke været opbevaret korrekt | Det oprensede DNAs udbytte og kvalitet afhænger af blodets opbevaringsforhold. Friskere blodprøver kan give bedre resultater. Ved korttidsopbevaring (op til 10 dage) anbefaler vi opbevaring ved 2-8 °C. Ved anvendelser, der kræver maksimal fragmentstørrelse, såsom southern-blotting, anbefales dog kun opbevaring ved 2-8 °C i op til 3 dage, idet små niveauer af DNA-nedbrydning vil indtræffe efter dette tidspunkt. Ved langtidsopbevaring tappes blod i rør (over 10 dage), der indeholder en standardkoagulans (fortrinvis EDTA, hvis der kræves højmolekylært DNA), og rørene opbevares ved -20 °C eller -80 °C. |
| e) | Nedfrosne blodprøver blev ikke opblandet korrekt efter optøning | Frosne prøver skal optøs hurtigt i vandbad på 37 °C under let omrøring for at sikre, at de blandes grundigt, og dernæst skal man lade dem opnå stuetemperatur (15-25°C), inden man påbegynder proceduren. |

DNA opfører sig ikke korrekt i efterfølgende reaktioner







- | | | |
|----|---|--|
| a) | Lidt eller intet DNA i eluatet | Se "Lavt DNA-udbytte" ovenfor for at se de mulige årsager. Forøg om muligt den mængde eluat, der tilsættes til reaktionen. |
| b) | Der er anvendt en forkert elueringsmængde | Fastslå den maksimale mængde eluat, der er egnet til din efterfølgende anvendelse. Reducer eller forøg mængden af eluat, der er tilsættes til efterfølgende anvendelse, tilsvarende. Elueringsmængden kan tilpasses proportionalt. Eluering med mindre mængder Buffer AE giver højere koncentrationer af nukleinsyre men kan resultere i et lavere samlet udbytte. |
| c) | Anvendelse af utilstrækkeligt DNA | Bestem mængden af oprenset DNA ved spektrofotometrisk måling af absorbansen ved 260 nm. |
| d) | Anvendelse af for meget DNA | For meget DNA kan inhibere nogle enzymreaktioner. Bestem mængden af oprenset DNA ved spektrofotometrisk måling af absorbansen ved 260 nm. |
| e) | Potentiel overførsel af hæmmer | Sørg for at udføre tørcentrifugeringstrinnet før eluering for at forhindre potentiel hæmning af den efterfølgende analyse. Det er vigtigt at bruge et nyt elueringsrør (ET) for at undgå kontaminering med resterende vaskebuffer, der kan føre til hæmning af den efterfølgende analyse. |

Symboler

Følgende symboler vises muligvis i brugsanvisningen eller på emballagen og etiketten:

Symbol	Symboldefinition
 Σ <N>	Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N>-reaktioner
	Holdbarhedsdato
	Dette produkt opfylder kravene i EU-direktivet 2017/746 for medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik.
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Ved levering
	Åbnes ved levering, opbevar QIAamp Mini-spin-kolonner ved 2-8 °C
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialenummer (dvs. etiketten på komponenten)
	Komponenter
	Indeholder

Symbol	Symboldefinition
	Antal
	Globalt handelsvarenummer
Rn	R står for revision af brugsanvisningen, og n står for revisionsnummeret
	Temperaturbegrænsning
	Producent
	Læs brugsanvisningen
	Volumen
	Skriv den aktuelle dato ned efter tilsætning af ethanol i flasken
	Tilsætter
	Lyofiliseret
	Rekonstituér i
	Ethanol

Symbol	Symboldefinition
	Guanidinhydrochlorid
	Subtilisin
	Fører til
	Læs brugsanvisningen
	Vigtig bemærkning
	Unikt enheds-id

Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Til 50 klargøringer: QIAamp Mini Spin-kolonner, buffere, reagenser, rør, VacConnectors	61104
Relaterede produkter		
QIAcube Connect MDx*	Instrument og 1 års garanti på dele og arbejdsløn	9003070
Tilbehør		
QIAvac 24 Plus†	Vakuumanifold for behandling af 1-24 spin-kolonner: Omfatter QIAvac 24 Plus vacuum manifold, Luer Plugs og Quick Couplings	19413
Vacuum Pump (230 V, 50 Hz)†	Universal vakuumpumpe (kapacitet på 34 liter/min., 8 mbar vakuum-abs.)	84020
VacConnectors (500)†	500 engangskonektorer til brug sammen med QIAamp-spin-kolonner på luerforbindelser	19407
VacValves (24)	24 ventiler til brug med QIAvac 24 og QIAvac 24 Plus	19408
Vacuum Regulator	Til brug med QIAvac-manifolder	19530
QIAvac Connecting System	System til forbindelse af vakuumanifold med vakuumpumpe: Omfatter bakke, flasker til spildvæske, slanger, koblinger, ventil, måler og 24 VacValves	19419
Rotor Adapters (10 x 24)	Til 240 klargøringer: 240 engangsrotoradaptere og 240 elueringsrør (1,5 ml); til brug med QIAcube Connect MDx	990394

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
Rotor Adapter Holder	Holder til 12 engangsrotoradaptere; til brug med QIAcube Connect MDx	990392
Sample Tubes CB (2 ml)	1000 koniske rør med skruehætte uden krave (2 ml) til brug med QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Rysterholderpropper (12)	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Reagensflasker (30 ml) med låg; pakke med 6; til brug med QIAcube Connect MDx	990393
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	Engangsfilterspidser i rack (8 x 128). Til brug med QIAcube Connect MDx	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (1024)	Engangsfilterspidser, wide-bore, i rack; (8 x 128); ikke påkrævet til alle protokoller. Til brug med QIAcube Connect MDx	990452
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Engangsfilterspidser i rack (8 x 128). Til brug med QIAcube Connect MDx- og QIASymphony SP/AS-instrumenterne	990332

* QIAcube Connect MDx er ikke tilgængeligt i alle lande. Kontakt QIAGEN Teknisk Service for at få flere oplysninger.

† Til brug med vakuumprotokoller.

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises der til den aktuelle QIAGEN-kitbrugsanvisning. QIAGEN kit-brugsanvisninger kan fås via www.qiagen.com eller kan rekvireres hos QIAGEN Teknisk Service eller den lokale distributør.

Revisionshistorik for dokumentet

Revision	Beskrivelse
R1, juni 2022	<p data-bbox="411 376 628 400">Version 3, Revision 1</p> <ul data-bbox="411 419 992 1086" style="list-style-type: none"><li data-bbox="411 419 992 448">● Opdatering til kit-version 3 for overholdelse af IVDR<li data-bbox="411 459 992 488">● Opdatering af Beskrivelse og princip<li data-bbox="411 499 992 608">● Opdatering af Medfølgende materialer (tilføjelse af aktive stoffer) og Nødvendige materialer, som ikke medfølger<li data-bbox="411 619 992 727">● Opdatering af Advarsler og forholdsregler (tilføjelse af oplysninger om nødsituationer og afsnittet Bortskaffelse)<li data-bbox="411 738 992 807">● Opdatering af Opbevaring og håndtering af reagenser<li data-bbox="411 818 992 887">● Opdatering af Prøvetagning, -opbevaring og -håndtering<li data-bbox="411 898 992 927">● Opdatering af Vigtig bemærkninger og Procedure<li data-bbox="411 938 992 967">● Opdatering af Begrænsninger<li data-bbox="411 978 992 1007">● Opdatering af Ydelseskarakteristika<li data-bbox="411 1018 992 1046">● Opdatering af afsnittet Symboler<li data-bbox="411 1058 992 1086">● Opdatering af Bestillingsinformation

Denne side er tom med vilje

Begrænset licensaftale for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne håndbog og kun med de komponenter, der er i panelet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette panel med komponenter, der ikke er inkluderet i dette panel, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne håndbog og andre protokoller, der er tilgængelige på www.qiagen.com. Nogle af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette panel, og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette panel og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, genoprettes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af panelet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og sagsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med panelet og/eller komponenterne deri.

Opdaterede licensbetingelser kan findes på www.qiagen.com.

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

Jun-2022 HB-3030-001 1127543 © 2022 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

