

# Bruksanvisning (handbok) för QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA Blood Mini Kit



Version 3



För in vitro-diagnostisk användning

För användning med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND



R1 1127543SV

# Innehåll

Avsedd användning .....	4
Avsedd användare .....	4
Beskrivning och princip .....	5
Lysering av blodkroppar .....	5
Bindning av genomiskt DNA till membranet i QIAamp Mini Spin-kolonn .....	5
Avlägsnande av restkontaminanter .....	6
Eluering av rent genomiskt DNA .....	6
Utbyte av och kvalitet på genomiskt DNA .....	7
Automatiserad rening på QIAcube Connect MDx .....	7
Sammanfattning och förklaring .....	10
Material som medföljer .....	11
Kitets innehåll .....	11
Paketets innehåll .....	12
Material Som Behövs Men Inte Medföljer .....	13
Ytterligare reagenser .....	13
Förbrukningsvaror .....	13
Utrustning .....	13
Endast för vakuumpceduren .....	13
Endast för det automatiserade förfarandet .....	14
Varningar och försiktighetsåtgärder .....	15
Säkerhetsinformation .....	15
Försiktighetsåtgärder .....	16

Bortskaffning.....	17
Förvaring och hantering av reagenser.....	18
Användningsstabilitet.....	18
Insamling, förvaring och hantering av prover.....	19
Viktiga anmärkningar.....	21
Viktiga moment före start av protokoll.....	21
Förbereda reagenser och buffertar.....	22
Hantera QIAamp Mini Spin-kolonner.....	23
Montera vakuumsystemet QIAvac 24 Plus.....	24
Procedur.....	26
Protokoll: Isolering och rening av genomiskt DNA från blodprov med en mikrocentrifug/automatiserad rening på QIAcube Connect MDx.....	26
Protokoll: Isolering och rening av genomiskt DNA från blodprov med ett vakuumsystem.....	30
Kvalitetskontroll.....	34
Begränsningar.....	35
Prestandaegenskaper.....	36
Felsökningshandbok.....	37
Symboler.....	40
Beställningsinformation.....	43
Dokumentrevisioner.....	45

## Avsedd användning

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit är ett system där kiselmembransteknik (QIAamp-teknik) används för isolering och rening av genomiskt DNA från biologiska prover.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit är avsedd för in vitro-diagnostik.

## Avsedd användare

Produkten är avsedd att användas av yrkesanvändare, såsom tekniker och läkare som är utbildade i molekylärbiologiska metoder.

Bruksanvisning (handbok) för QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

# Beskrivning och princip

Varje procedur för QIAamp DSP DNA Blood Mini består av 4 steg:

- Lysering av celler i blodprovet
- Bindning av genomiskt DNA i cellysatet till membranet i en QIAamp Mini Spin-kolonn
- Tvättning av membranet
- Eluering av genomiskt DNA från membranet

Denna handbok innehåller protokoll för 2 alternativa QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurer: spinnproceduren som kräver en centrifug eller som kan automatiseras på QIAcube® Connect MDx (Figur 1), och vakuumproceduren som kräver en centrifug och ett vakuumsystem (se flödesdiagrammet, sida 9).

## Lysering av blodkroppar

Prov lyseras under denatureringsförhållanden vid förhöjda temperaturer. Lysering utförs i närvaro av QIAGEN® Protease (QP) och lyseringsbuffert (AL).

## Bindning av genomiskt DNA till membranet i QIAamp Mini Spin-kolonn

För att optimera bindningen av genomiskt DNA till membranet i QIAamp Mini Spin-kolonn tillsätts först etanol till lysaten. Varje lysat appliceras därefter till en QIAamp Mini Spin-kolonn och genomiskt DNA adsorberas på kiselmembranet när lysatet transporteras igenom med vakuumtryck eller centrifugalkraft.

## Avlägsnande av restkontaminanter

Medan genomiskt DNA kvarstår som bundet till membranet i QIAamp Mini Spin-kolonn tvättas kontaminanter effektivt bort med hjälp av först tvättbuffert 1 (AW1) och därefter tvättbuffert 2 (AW2).

## Eluering av rent genomiskt DNA

Genomiskt DNA elueras från membranet i QIAamp Mini Spin-kolonn med 50–200 µl tvättbuffert (AE). Det eluerade DNA:t är klart att använda i olika nedströmsanalyser, inklusive olika diagnostiska nedströms in vitro-analyser. Elueringsbuffert (AE) bör rumstempereras (15–25 °C) innan den tillsätts i kolonnen.

På grund av den kvarvarande elueringsbuffert som kvarhålls av spinnkolonnens membran efter centrifugering kan återhämtad eluatvolym vara mindre än volymen elueringsbuffert (AE) som tillsatts kolonnen. Utbytesvolymen av eluatet beror på provets natur. Eluerat DNA samlas in i elueringsrör (ET) och kan förvaras i 2–8 °C i upp till 4 veckor. För långtidsförvaring rekommenderar vi förvaring vid -20 °C.

Obs! Eluatstabiliteten är väldigt beroende av olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. Den har utvärderats för QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit i samband med exempel på nedströmsapplikationer. Det är användarens ansvar att se bruksanvisningen för den specifika nedströmsapplikation som används i laboratoriet och/eller validera hela arbetsflödet för att etablera lämpliga förvaringsförhållanden.

## Utbyte av och kvalitet på genomiskt DNA

DNA-utbyte beror på provet och kvaliteten på startmaterialet. Eluering i mindre volymer ökar den slutliga DNA-koncentrationen i eluatet men minskar något det övergripande DNA-utbytet. Vi rekommenderar att du använder en elueringsvolym som är lämplig för den avsedda nedströmstillämpningen.

Utbytet av och kvaliteten på isolerat genomiskt DNA lämpar sig för procedurer för nedströmsdetektion inom molekylär diagnostik som PCR. Diagnostiska analyser bör utföras i enlighet med tillverkarnas anvisningar.

## Automatiserad rening på QIAcube Connect MDx

QIAcube Connect MDx utför automatiserad isolering och rening av nukleinsyror. Den kan bearbeta upp till 12 prover i varje körning.

Provberedningen i QIAcube Connect MDx sker med samma steg som vid den manuella proceduren (dvs. lysning, bindning, tvätt och eluering), så att du kan fortsätta att använda QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit för rening av högkvalitativt DNA.

Om QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit automatiseras i QIAcube Connect MDx kan det hända att instrumentet bearbetar färre än 50 prover på grund av dödvolymer, avdunstning och extra reagensförbrukning genom automatiserad pipettering. Det är bara om QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit används manuellt som QIAGEN garanterar 50 provberedningar.



Figur 1. QIAcube Connect MDx.



## Spinn- och vakuumpcedurer med QIAamp DSP DNA Blood Mini

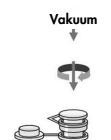
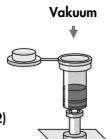
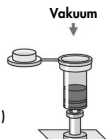
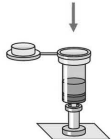
### QIAamp- spinnprocedur

Prov



### QIAamp- vakuumpcedur

Prov



Lysering

Bindning

Vakuumpcedur

Tvätt  
(Buffer AW1)

Vakuumpcedur

Tvätt  
(Buffer AW2)

Vakuumpcedur

Eluera

Läs noggrant igenom protokollen (sida 26 och 30) innan du startar.

Tillsätt 20 µl QP, 200 µl prov och 200 µl AL i LT.  
Vortexblanda i 15 s.  
Inkubera i 10 min vid 56 °C.  
Tillsätt 200 µl etanol.  
Vortexblanda i 15 s.

Överför lysat till QIAamp Mini Spin-kolonn.  
Spinnprocedur: Centrifugera i 1 min vid 6000 x g.

Vakuumpcedur: Applicera vakuumpcedur.

Spinnprocedur: Placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ett nytt WT, tillsätt 500 µl AW1 och centrifugera i 1 min vid 6 000 x g.

Vakuumpcedur: Tillsätt 750 µl AW1 och applicera vakuumpcedur.

Spinnprocedur: Placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ett nytt WT, tillsätt 500 µl AW2 och centrifugera i 1 min vid maximal hastighet (cirka 20 000 x g eller 14 000 varv/min).

Vakuumpcedur: Tillsätt 750 µl AW2 och applicera vakuumpcedur.

Placera QIAamp Mini Spin Column i WT.

Centrifugera i 3 min vid maximal hastighet (cirka 20 000 x g eller 14 000 varv/min).

Placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ET.

Tillsätt 50–200 µl AE och inkubera i 1 min.

Centrifugera i 1 min vid 6 000 x g.

## Sammanfattning och förklaring

I QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit används väletablerad teknik för att tillhandahålla ett snabbt och enkelt sätt att isolera och rena genomiskt DNA från 200 µl helblodsprov.

Procedurerna för QIAamp DSP DNA Blood Mini, som är avsedda för simultan bearbetning av flera blodprov, ger bruksfärdigt renat DNA. Procedurerna lämpar sig för användning med färskt eller fryst helblod och blod som har behandlats med citrat eller EDTA.

Förseparation av leukocyter är inte nödvändig. Procedurerna kräver varken extraktion med fenol/kloroform eller fällning med alkohol och kräver minimal interaktion av användaren, vilket ger säker hantering av potentiellt smittsamma prov. Metoderna är utformade för att minimera korskontaminering från prov till prov. Renat DNA är bruksfärdigt för PCR eller andra applikationer eller kan alternativt förvaras vid -20 °C för långtidsförvaring.

De enkla QIAamp DSP-spinn- och vakuumprocedurerna passar för simultan bearbetning av flera prover. Vissa av QIAamp-spinnprocedurerna kan automatiseras helt i QIAcube Connect MDx för ökad standardisering och användarvänlighet (sida 7).

För vakuumproceduren krävs ett vakuimgrenrör (t.ex. QIAvac 24 Plus med QIAvac Connecting System) och en vakuumpump som kan skapa ett vakuum på cirka 800–900 mbar (t.ex. QIAGEN Vacuum Pump) för protokollet. Vacuum Regulator bör användas (del av QIAvac Connecting System) för enkel övervakning av vakuumtrycket och ett lämpligt vakuumsläpp.

# Material som medföljer

## Kitets innehåll





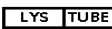
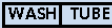
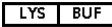






### QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Katalognr

61104

Antal beredningar

50

	Identitet	Symboler	Kvantitet
5	QIAamp Mini Spin Columns (QIAamp Mini Spin-kolonner med Wash Tubes (tvättrör) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Elueringsrör) (1,5 ml)	 	50
VC	VacConnectors (Vakuumanslutningar)		50
LT	Lysis Tubes (lyseringsrör) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (tvättrör) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer* (lyseringsbuffert)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 <sup>†</sup> (Tvättbuffert 2) (koncentrat)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 <sup>†</sup> (Tvättbuffert 2) (koncentrat)		13 ml
AE	Elution Buffer (elueringsbuffert) <sup>‡</sup>		25 ml
PS	Protease Solvent (proteaslösningsmedel) <sup>‡</sup>		2 ml
QP	QIAGEN Protease <sup>§</sup>		1 flaska
-	Bruksanvisning (Handbok)		1

\* Om QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit automatiseras i QIAcube Connect MDx kan det hända att instrumentet bearbetar färre än 50 prover på grund av dödvolymer, avdunstning och extra reagensförbrukning genom automatiserad pipettering. Det är bara om QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit används manuellt som QIAGEN garanterar 50 provberedningar.

<sup>†</sup> Innehåller guanidinhydroklorid. Inte kompatibel med desinfektionsmedel med blekmedel. För ytterligare information, se Säkerhetsinformation på sida 15.

<sup>‡</sup> Innehåller natriumazid som konserveringsmedel.

<sup>§</sup> Resuspensionsvolym 1,2 ml. Se "Förbereda reagenser och buffertar" på sida 22.

## Paketets innehåll

De viktigaste komponenterna i kitet som innehåller aktiva ingredienser förklaras nedan.

<b>Reagens</b>	<b>Aktiva innehållsämnen</b>	<b>Koncentration (v/v) [%]</b>
QIAGEN Protease	Subtilisin	≥0 till ≤100
AL	Guanidinhydroklorid Maleinsyra	≥30 till <50 ≥0,1 till <1
AW1	Guanidinhydroklorid	≥50 till <70

# Material Som Behövs Men Inte Medföljer

## Ytterligare reagenser

- Etanol (96–100 %) \*

## Förbrukningsvaror

- Pipetter<sup>†</sup> och pipettspetsar (för att förhindra korskontaminering rekommenderar vi starkt användning av pipettspetsar med aerosolbarriärer)
- Engångshandskar

## Utrustning

- Värmeblock<sup>†</sup> för lysering av proverna vid 56 °C (för 1,5 ml mikroprovör)
- Mikrocentrifug<sup>†</sup>
- Mätcylinder (50 ml)
- Vortexblandare

## Endast för vakuumproceduren

- QIAvac 24 Plus Vacuum System (kat.nr 19413) eller likvärdiga<sup>†</sup>
- VacValves (kat.nr 19408)
- QIAvac Connecting System (kat.nr 19419)
- Vacuum Pump (kat.nr 84020)
- Vacuum Regulator (kat.nr 19530)

\* Använd inte denaturerad alkohol som innehåller andra substanser, såsom metanol eller metyletylketon.

<sup>†</sup> För att garantera att prover bearbetas korrekt i QIAamp DSP DNA Blood Mini-proceduren rekommenderar vi starkt att instrument (t.ex. överföringspipetter och värmeblock) kontrolleras och kalibreras i enlighet med tillverkarnas rekommendationer.

## Endast för det automatiserade förfarandet

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

\* För att garantera att prover bearbetas korrekt i QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedureerna rekommenderar vi starkt att instrument (t.ex. överföringspipetter och värmeblock) kontrolleras och kalibreras i enlighet med tillverkarnas rekommendationer.

# Varningar och försiktighetsåtgärder


Var medveten om att du kan behöva konsultera lokala regelverk för rapportering av allvariga incidenter som inträffat i samband med enheten till tillverkaren och/eller auktoriserad representant och den tillsynsmyndighet där användaren och/eller patienten befinner sig.

För in vitro-diagnostisk användning.

Läs alla anvisningar noga innan du använder kitet.

## Säkerhetsinformation

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheet, SDS). De är tillgängliga på webben i behändigt PDF-format på adressen [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), där du kan hitta, visa och skriva ut säkerhetsdatablad för varje QIAGEN-sats och satskomponent.

<b>FÖRSIKTIGHET</b> 	Tillsätt INTE blekmedel eller sura lösningar direkt i avfallet från provberedningen.
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------

- Lyseringsbuffert (AL) och tvättbuffert 1 (AW1) innehåller guanidinhydroklorid som kan bilda mycket reaktiva föreningar i kombination med blekmedel. Om vätska med dessa buffertar spills ut ska den torkas upp med lämpliga laboratorierengöringsmedel och vatten. Om den spillda vätskan innehåller potentiellt smittsamma ämnen ska området först rengöras med laboratorierengöringsmedel och vatten och därefter med 1 % (v/v) natriumhypoklorit. Om buffertflaskorna är skadade eller läcker ska man använda handskar och skyddsglasögon när flaskorna kastas för att undvika personlig skada eller skada på andra.

- QIAGEN har inte testat det flytande avfall som genereras av QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurerna avseende smittsamt restmaterial. Kontamination av det flytande avfallet med smittsamt restmaterial är mycket osannolikt men kan inte fullständigt uteslutas. Därför måste det flytande avfallet anses vara smittsamt och ska hanteras och kastas i enlighet med lokala säkerhetsbestämmelser.
- Prover är potentiellt smittsamma. Kassera avfall från prover och analyser i enlighet med lokala säkerhetsprocedurer.

## Vid nödsituationer

CHEMTREC

USA och Kanada 1-800-424-9300

Utanför USA och Kanada +1 703-527-3887

## Försiktighetsåtgärder

Följande risk- och säkerhetsfraser tillämpas på komponenterna i QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

### Buffer AL



Innehåller: guanidinhydroklorid och maleinsyra. Varning! Kan vara skadligt vid förtäring eller inandning. Irriterar huden. Kan orsaka allergisk hudreaktion. Orsakar allvarlig ögonirritation. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare om du känner dig sjuk. Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. Ta av kontaminerade kläder och tvätta dem innan de används igen. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.

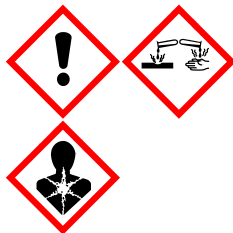
### Buffer AW1



Innehåller: guanidinhydroklorid. Varning! Skadligt vid förtäring eller inandning. Irriterar huden. Orsakar allvarlig ögonirritation. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. Ta av kontaminerade kläder och tvätta dem innan de används igen. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.



## QIAGEN Protease



Innehåller: subtilisin. Fara! Farligt vid förtäring. Irriterar huden. Orsakar allvarlig ögonskada. Kan orsaka allergi- eller astmaliknande symptom eller andningssvårigheter vid inandning. Kan orsaka luftvägsirritation. Undvik inandning av damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. Använd andningsskydd. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om detta går lätt att göra. Fortsätt att skölja. Vid exponering eller oro: Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN eller läkare. För personen till frisk luft och placera i ett läge där det är bekvämt att andas.

## Bortskaffning

Avfallet innehåller prover och reagenser. Detta avfall kan innehålla giftigt och smittsamt material och måste kasseras på lämpligt sätt. Se dina lokala säkerhetsföreskrifter för lämpliga kasseringsprocedurer.

Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheet, SDS). Dessa är tillgängliga online i PDF-format på [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) där du kan hitta, granska och skriva ut säkerhetsdatablad för alla kit och kitkomponenter från QIAGEN.

# Förvaring och hantering av reagenser

Var uppmärksam på de utgångsdatum och förvaringsvillkor som anges på förpackningen och på etiketterna till alla komponenter. Använd inte komponenter vars utgångsdatum har passerat eller som har förvarats felaktigt.

QIAamp Mini Spin-kolonner ska förvaras vid 2–8 °C efter leveransen och kan användas fram till utgångsdatumet på kitets kartong.

Obs! För att tillse att kitkomponenter från olika kit inte blandas ska du märka QIAamp Mini Spin-kolonner med respektive kitlotnummer.

Alla buffertar kan förvaras vid rumstemperatur (15–25 °C) fram till utgångsdatumet på kartongen.

Frystorkat QIAGEN Protease (QP) kan förvaras i rumstemperatur (15–25 °C) fram till satsens utgångsdatum utan att dess prestanda påverkas.

## Användningsstabilitet

Rekonstituerat QIAGEN Protease (QP) är hållbart i upp till 1 år vid förvaring i 2–8 °C, men endast fram till satsens utgångsdatum. Förvaring av QIAGEN Protease (QP) stamlösning i rumstemperatur under långa tidsperioder bör undvikas.

Rekonstituerad tvättbuffert 1 (AW1) och rekonstituerad tvättbuffert 2 (AW2) är hållbara i upp till 1 år vid förvaring i rumstemperatur (15–25 °C), men endast fram till satsens utgångsdatum.

För beredning av buffertar för den automatiska proceduren, följ anvisningarna i *Bruksanvisning för QIAcube Connect MDx* (som du hittar under resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Insamling, förvaring och hantering av prover

Obs! Provstabiliteten är väldigt beroende av olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. Den har utvärderats med exempelapplikationer nedströms. Det är användarens ansvar att se bruksanvisningen för den specifika nedströmsapplikation som används i laboratoriet och/eller validera hela arbetsflödet för att etablera lämpliga förvaringsförhållanden.

För allmänna rekommendationer om insamling, transport och förvaring kan du läsa den godkända CLSI-riktlinjen MM13-A "Insamling, transport, beredning och förvaring av prover för molekylära metoder". Dessutom ska tillverkarens anvisningar för den valda provtagningsenheten följas vid provberedning, förvaring, transport och allmän hantering av prov. Oberoende av anvisningarna från blodprovtagningens tillverkare ska ISO 20186-2:2019 (E) följas vid extraktion av genomiskt DNA från venöst helblod.

Obs! Enligt ISO 20186-2:2019(E) kan heparin från blodprovtagningens rör påverka de isolerade nukleinsyrornas renhet och möjlig överföring (carryover) till eluat kan orsaka inhiberingar i vissa nedströmsapplikationer. Därför rekommenderar vi att använda blodprover som behandlats med EDTA eller citrat som antikoagulant.

Om du använder färsk blodprover i primärrör blandar du proverna noga (t.ex. genom att vända rören flera gånger) innan provöverföring. Frysta prover (med högst 3 frysning-/upptiningscyklar) ska tinas snabbt i ett vattenbad på 37 °C med lätt omrörning för att säkerställa en noggrann blandning och därefter utjämnas till rumstemperatur (15–25 °C) innan proceduren inleds. Använd inte blodprov som har frysts och tinats mer än 3 gånger. För att säkerställa en pålitlig provöverföring bör skumbildning i provrören undvikas. Försök att undvika blodklumpar i proven och överför provet utan klumpar. Kryoprecipitat som bildats under upptining av frysta prover täpper till membranet i QIAamp Mini Spin-kolonn och kan påverka den automatiska proceduren på QIAcube Connect MDx. Om kryoprecipitat är synliga bör du undvika att aspirera dem.

Utbyte och kvalitet av renat DNA beror på blodets förvaringsförhållanden. Färskare blodprover kan ge bättre resultat. För korttidsförvaring på upp till 10 dagar rekommenderar vi förvaring vid 2–8 °C. För applikationer som kräver maximal fragmentstorlek, t.ex. Southern blotting, rekommenderar vi emellertid förvaring vid 2–8 °C i endast upp till 3 dagar, eftersom låga nivåer av DNA-nedbrytning sker efter denna tidpunkt. För långvarig förvaring (mer än 10 dagar) ska blodet samlas in i rör innehållande en standardantikoagulant (företrädesvis EDTA om DNA med hög molekylärvikt krävs) och förvaras vid -20 eller -80 °C.

# Viktiga anmärkningar

## Viktiga moment före start av protokoll

- Kontrollera att satskomponenterna inte är skadade efter mottagande av satsen. Om blisterförpackningar eller buffertflaskor är skadade ska du kontakta QIAGEN teknisk service eller den lokala distributören. I händelse av vätskespill, se "Säkerhetsinformation" (sida 15). Använd inte skadade satskomponenter eftersom det kan leda till dålig satsprestanda.
- Byt alltid pipettspetsar mellan vätskeöverföringar. Användning av pipettspetsar med aerosolbarriärer rekommenderas för att minimera korskontaminering.
- Använd alltid engångshandskar under hela processen och kontrollera regelbundet att de inte kontaminerats av provmaterial. Kasta handskar om de blir kontaminerade.
- Öppna endast ett rör åt gången för att minimera korskontaminering.
- Efter stegen med puls-vortexblandning ska mikrocentrifugrören centrifugeras kortvarigt för att avlägsna droppar från lockens insida. Användaren ska tillse att provens spårbarhet behålls under hela proceduren.
- Alla centrifugeringssteg utförs i rumstemperatur (15-25 °C).
- Använd inte satskomponenter från andra satser med den sats som för närvarande används såvida inte lotnumren är identiska.
- Undvik mikrobiell kontaminering av satsreagenser.
- Arbete under laminära luftflödesförhållanden rekommenderas tills proverna har lyserats för att undvika kontamination från potentiellt smittsamma material.
- Denna sats bör endast användas av personal utbildad i in vitro-diagnostisk laboratoriepraxis.

## Förbereda reagenser och buffertar

- Förbereda QIAGEN Protease

Tillsätt 1,2 ml proteaslösningsmedel (PS) i flaskan med frystorkat QIAGEN Protease (QP) och blanda försiktigt. Blanda genom att vända flaskan flera gånger för att undvika skumbildning. Se till att QIAGEN Protease (QP) är fullständigt upplöst.

Viktigt: Tillsätt inte QIAGEN Protease (QP) direkt till lyseringsbuffert (AL).

- Förbereda tvättbuffert 1

Mät upp 25 mL etanol (96–100 %) med en mätcylinder och tillsätt det i flaskan som innehåller 19 mL koncentrat av tvättbuffert 2 (AW2). Förvara rekonstituerad tvättbuffert 1 (AW1) i rumstemperatur (15–25 °C).

Viktigt: Blanda alltid rekonstituerad tvättbuffert 1 (AW1) genom att vända flaskan flera gånger innan proceduren startas.

- Förbereda tvättbuffert 2

Mät upp 30 mL etanol (96–100 %) med en mätcylinder och tillsätt det i flaskan som innehåller 13 mL koncentrat av tvättbuffert 2 (AW2). Förvara rekonstituerad tvättbuffert 2 (AW2) i rumstemperatur (15–25 °C).

**Viktigt:** Blanda alltid rekonstituerad tvättbuffert 2 (AW2) genom att vända flaskan flera gånger innan proceduren startas.

- Förbereda elueringsbuffert

En flaska elueringsbuffert (AE) ingår i satsen. För att förhindra kontaminering av elueringsbufferten (AE) rekommenderar vi starkt användning av pipettspetsar med aerosolbarriär vid pipettering av elueringsbuffert (AE) från flaskan och att locket på flaskan sätts tillbaka omedelbart efteråt.

**Viktigt:** Elueringsbuffert (AE) innehåller konserveringsmedlet natriumazid som visar absorbans vid 260 nm. Därför ska man se till att blankprovet innehåller samma koncentration av natriumazid som eluatet när man kvantifierar DNA i eluatet med absorbansmätningar vid 260 nm, när man bestämmer renheten för DNA i eluatet med absorbansmätningar vid 260 nm och 280 nm eller när man skannar absorbans i intervallet 220–350 nm. Om till exempel eluatet förbereds för absorbansmätningar med spädning av 50 µl eluat med 100 µl vatten, bör du förbereda blankprovet genom att späda 50 µl elueringsbuffert (AE) med 100 µl vatten. Använd färskt destillerat vatten för spädningar.

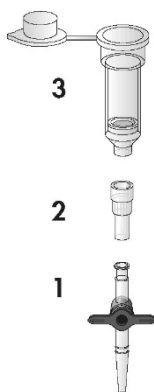
## Hantera QIAamp Mini Spin-kolonner

På grund av den höga känsligheten i teknikerna för nukleinsyreamplifiering måste följande försiktighetsåtgärder vidtas vid hantering av QIAamp Mini Spin-kolonner för att förhindra korskontaminering mellan provberedningarna:

- Tillsätt försiktigt provet eller lösningen till QIAamp Mini Spin-kolonner. Pipettera provet i QIAamp Mini Spin-kolonn utan att blöta ned kolonnens kant.
- Undvik att vidröra membranet på QIAamp Mini Spin-kolonn med pipettspetsen.
- Öppna endast en QIAamp Mini Spin-kolonn åt gången och undvik aerosolbildning.

## Montera vakuumsystemet QIAvac 24 Plus

Se till att QIAamp Mini Spin-kolonn, VacConnector (VC) och VacValve ställs in korrekt (se Figur 2).



**Figur 2. Montering av komponenterna i QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit för vakuumbearbetning av prov.**  
(1) VacValve, (2) VacConnector (VC) och (3) QIAamp Mini Spin-kolonn.

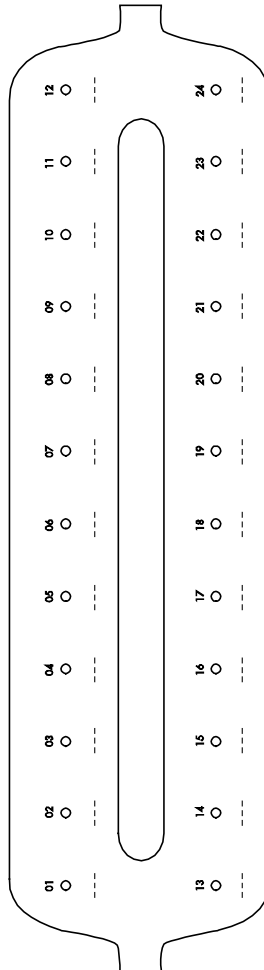
Om du använder vakuumpceduren med vakuumsystemet QIAvac 24 Plus rekommenderas märkning av lyseringsrören (LT), elueringsrören (ET) och QIAamp Mini Spin-kolonner i enlighet med schemat i Figur 3 (se nästa sida) för att undvika sammanblandning av prov. Detta schema kan fotokopieras och märkas med namnen på proven. Vi rekommenderar användning av ett liknande schema om andra vakuumsystem eller spinnproceduren används.



Datum: \_\_\_\_\_

Operatör: \_\_\_\_\_

Körnings-ID: \_\_\_\_\_



**Figur 3. Märkningsschema för lyseringsrör (LT), elueringsrör (ET) och QIAamp Mini Spin-kolonner för användning med vakuumsystemet QIAvac 24 Plus.**

# Procedur

## Protokoll: Isolering och rening av genomiskt DNA från blodprov med en mikrocentrifug/automatiserad rening på QIAcube Connect MDx

För isolering och rening av genomiskt DNA från 200 µl helblodsprov behandlat med EDTA eller citrat med en mikrocentrifug eller automatiserat på QIAcube Connect MDx.

### Viktigt att tänka på före start




- Proceduren nedan ger anvisningar för bearbetning av ett enskilt blodprov. Flera prov kan emellertid bearbetas samtidigt. Antalet beror på kapaciteten för den mikrocentrifug som används.
- Automatiserad bearbetning av 2–10 eller 12 prov kan utföras på QIAcube Connect MDx Instrument.
- För automatisering följer du anvisningarna i användargränssnittet (QIAcube Connect MDx) och refererar till *Bruksanvisning för QIAcube Connect MDx* (som du hittar under resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Saker som måste göras före start

- Låt blodproven uppnå rumstemperatur och se till att de är väl blandade.
- Se till att alla reagenser och QIAamp Mini Spin-kolonner (i förslutna blister) är ekvibrerade till rumstemperatur.
- Ställ in ett värmeblock på 56 °C för användning i steg 4 (krävs för manuell procedur och automatisk procedur med manuell extern lysering).
- Se till att tvättbuffert 1 (AW1), tvättbuffert 2 (AW2) och QIAGEN Protease (QP) har beretts enligt anvisningarna i "Förbereda reagenser och buffertar" på sida 22.
- Om det har bildats precipitat i lyseringsbufferten (AL) löser du upp det genom att inkubera i 56 °C.
- Kvalitetskontrollprocedurer hos QIAGEN testas varje individuell lot i den funktionella satsen. Blanda därför inte reagens från olika satsloter och kombinera inte individuella reagens från olika reagensloter.

## Procedur

- För det manuella förfarandet med mikrocentrifug följ stegen 1–15.
  - Den här proceduren kan automatiseras i 3 olika versioner:
    - Elueringsvolym: 100 µl fullständigt automatiserad (automatiseringen startar från steg 1)
    - Elueringsvolym: 200 µl fullständigt automatiserad (automatiseringen startar från steg 1)
    - Manuell lysering: delvis automatiserad med manuell extern lysering och elueringsvolymmer på 100–200 µl i inkrement om 10 µl (automatiseringen startar efter steg 5)
1. Pipettera 20 µL QIAGEN Protease (QP) i ett lyseringsrör (LT).
    - ⓘ Kontrollera utgångsdatumet för det rekonstituerade proteaset före användning.
  2. Tillsätt 200 µl blodprov till lyseringsrör (LT).
  3. Tillsätt 200 µl lyseringsbuffert (AL) till lyseringsrör (LT), stäng locket och blanda med puls-vortexblandning i  $\geq 15$  s.
    - ⓘ Det är viktigt att prov och lyseringsbuffert (AL) blandas noggrant för att garantera effektiv lysering och ge en homogen lösning.
    - ⓘ Eftersom lyseringsbuffert (AL) har hög viskositet bör du se till att rätt volym lyseringsbuffert (AL) tillsätts genom noggrann pipettering och genom att använda en lämplig pipett.
    - ⓘ Tillsätt inte QIAGEN Protease (QP) direkt till lyseringsbuffert (AL).
  4. Inkubera vid 56 °C 10 min.
  5. Centrifugera lyseringsrör (LT) i  $\geq 5$  s med maximal hastighet för att avlägsna droppar från insidan av locket.
    - ⓘ Om manuell lysering (steg 1–5) utfördes externt kan följande steg (steg 6–15) automatiseras på QIAcube Connect MDx med hjälp av protokollet för manuell lysering.

6. Tillsätt 200 µl etanol (96-100 %) till lyseringsrör (LT), stäng locket och blanda noggrant med puls-vortexblandning i  $\geq 15$  s.
7. Centrifugera lyseringsrör (LT) i  $\geq 5$  s med maximal hastighet för att avlägsna droppar från insidan av locket.
8. Applicera hela lysatet från steg 7 försiktigt i QIAamp Mini spin-kolonnen utan att blöta ned kanten. Undvik att vidröra membranet på QIAamp Mini Spin-kolonn med pipettspetsen.
  -  Om flera prov bearbetas ska endast ett lyseringsrör (LT) öppnas åt gången.
9. Stäng locket på QIAamp Mini Spin-kolonn och centrifugera vid cirka 6 000 x g i en minut. Placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ett rent tvättrör (WT) och kassera röret som innehåller filtratet.
  -  Om lysatet inte har passerat genom membranet fullständigt efter centrifugering i 6 000 x g (8 000 rpm) centrifugerar du igen i full hastighet (upp till 20 800 x g) i 1 min.
  -  Om lysatet fortfarande inte passerar genom membranet under centrifugering ska du kassera provet och upprepa isoleringen och reningen med nytt provmaterial med början vid steg 1 på sida 27.
10. Öppna QIAamp Mini spin-kolonnen försiktigt och tillsätt 500 µl tvättbuffert 1 (AW1) utan att blöta ned kanten. Undvik att vidröra membranet på QIAamp Mini Spin-kolonn med pipettspetsen.
11. Stäng locket på QIAamp Mini Spin-kolonn och centrifugera vid cirka 6 000 x g (min) i en minut. Placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ett rent tvättrör (WT) och kassera röret som innehåller filtratet.
12. Öppna QIAamp Mini spin-kolonnen försiktigt och tillsätt 500 µl tvättbuffert 2 (AW2) utan att blöta ned kanten. Undvik att vidröra membranet på QIAamp Mini Spin-kolonn med pipettspetsen.

13. Stäng locket på QIAamp Mini Spin-kolonn och centrifugera med maximal hastighet (cirka 20 000 x *g* eller 14 000 varv/min) i en minut. Placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ett rent tvättrör (WT) och kassera röret som innehåller filtratet.

Centrifugera med maximal hastighet (cirka 20 000 x *g* eller 14 000 varv/min) i tre minuter för att fullständigt torka membranet.

**i** Uteslutning av torrcentrifugeringen kan leda till inhibering av efterföljande analys.

14. Placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ett nytt elueringsrör (ET) och kassera tvättröret (WT) som innehåller filtratet. Öppna locket till QIAamp Mini Spin-kolonn försiktigt och applicera 50 till 200 µl elueringsbuffert (AE) mitt på membranet.

**i** Det är viktigt att använda ett nytt elueringsrör för att undvika kontaminering med kvarvarande tvättbuffertar vilket kan leda till hämning av nedströms analys.

**i** Dispensering av elueringsbuffert (AE) till mitten av membranet är särskilt viktigt vid mindre elueringsvolymmer för att tillse optimal hämtning av nukleinsyror och elueringsbuffert (AE).

15. Stäng locket och inkubera i rumstemperatur i en minut. Centrifugera vid cirka 6 000 x *g* (8 000 varv/min) i en minut för att eluera DNA.

**i** Rikta locken på elueringsrören så att de pekar i motsatt riktning mot rotorns rotation (om t.ex. rotorn roterar medurs riktar du locken moturs).

**i** För alla automatiserade procedurer, tar du ut eluaten från instrumentet direkt efter att körningen avslutats och förvarar dem korrekt.

## Protokoll: Isolering och rening av genomiskt DNA från blodprov med ett vakuumsystem

För isolering och rening av genomiskt DNA från 200 µl helblodsprov behandlade med EDTA eller citrat med ett vakuumsystem som t.ex. QIAvac 24 Plus.

### Viktigt att tänka på före start

Proceduren nedan ger anvisningar för bearbetning av ett enskilt blodprov. Upp till 24 prov kan emellertid bearbetas åt gången med vakuumsystemet QIAvac 24 Plus.

### Saker som måste göras före start

- Låt blodproven uppnå rumstemperatur och se till att de är väl blandade.
- Se till att alla reagenser och QIAamp Mini Spin-kolonn (i förslutna blister) är ekvilibrerade till rumstemperatur.
- Ställ in ett värmeblock på 56 °C för användning i steg 4.
- Se till att tvättbuffert 1 (AW1), tvättbuffert 2 (AW2) och QIAGEN Protease (QP) har beretts enligt anvisningarna i "Förbereda reagenser och buffertar" på sida 22.
- Om det har bildats precipitat i lyseringsbufferten (AL) löser du upp det genom att inkubera i 56 °C.
- För in en VacConnector (VC) i varje lueradapter i vakuumsystemet för att minimera korskontaminering.
- Se till att avfallsflaskan för vakuumsystemet är tom och att alla anslutningar är korrekta.
- Se den medföljande handboken för information om vakuumsystemets funktion, särskilt underhåll.
- Kvalitetskontrollprocedurer hos QIAGEN testar varje individuell lot i den funktionella satsen. Blanda därför inte reagens från olika satsloter och kombinera inte individuella reagens från olika reagensloter.

## Procedur

1. Pipettera 20 µl QIAGEN Protease (QP) i ett lyseringsrör (LT).
  - ❗ Kontrollera utgångsdatumet för det rekonstituerade proteaset före användning.
2. Tillsätt 200 µl blodprov till lyseringsrör (LT).
3. Tillsätt 200 µl lyseringsbuffert (AL) till lyseringsröret (LT), stäng locket och blanda med puls-vortexblandning i ≥15 s.
  - ❗ Det är viktigt att prov och lyseringsbuffert (AL) blandas noggrant för att garantera effektiv lysering och ge en homogen lösning.
  - ❗ Eftersom lyseringsbuffert (AL) har hög viskositet bör du se till att rätt volym lyseringsbuffert (AL) tillsätts genom noggrann pipettering och genom att använda en lämplig pipett.
  - ❗ Tillsätt inte QIAGEN Protease (QP) direkt till lyseringsbuffert (AL).
4. Inkubera vid 56 °C 10 min.
5. Centrifugera lyseringsrör (LT) i ≥5 s med maximal hastighet för att avlägsna droppar från insidan av locket.
6. Tillsätt 200 µl etanol (96-100 %) till lyseringsrör (LT), stäng locket och blanda noggrant med puls-vortexblandning i ≥15 s.
7. Centrifugera lyseringsrör (LT) i ≥5 s med maximal hastighet för att avlägsna droppar från insidan av locket.
8. För in QIAamp Mini Spin-kolonn i VacConnector (VC) på vakuumsystemet. Kontrollera att huvudvakuumentilen (mellan vakuumsystemet och vakuumgrenröret) och ventilen med skruvlock (på vakuumgrenröret) är stängda. Sätt igång vakuumpumpen.  
Kassera tvättröret (WT) (2 ml) i vilken QIAamp Mini Spin-kolonn är placerad i blistret.  
Vakuumet appliceras endast på anslutningssystemet (om ett sådant används) och inte på vakuumgrenröret.

9. Applicera hela lysatet från steg 7 försiktigt i QIAamp Mini spin-kolonnen utan att blöta ned kanten. Undvik att vidröra membranet på QIAamp Mini Spin-kolonn med pipettspetsen.

**i** Om flera prov bearbetas ska endast ett lyseringsrör (LT) öppnas åt gången.

10. Öppna huvudvakuumventilen. När lysatet har passerat genom QIAamp Mini Spin-kolonn stänger du huvudvakuumventilen och öppnar ventilen med skruvlock på vakuumgrenröret för att lufta grenröret. Stäng ventilen med skruvlock när vakuomet har avlägsnats från grenröret.

När huvudvakuumventilen har stängts appliceras vakuomet endast på anslutningssystemet (om ett sådant används) och inte på vakuumgrenröret.

**i** Använd ventilen med skruvlock på vakuumgrenröret för att snabbt avlägsna vakuomet.

**i** Om flera QIAamp Mini Spin-kolonner bearbetas på samma gång rekommenderas att VacValve för varje kolonn stängs efter att lysatet har passerat för att minska tiden för detta vakuumsteg.

**i** Om lysatet inte fullständigt passerat genom membranet efter tio minuter, placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ett rent tvättrör (WT), stäng locket och centrifugera vid  $6\ 000 \times g$  (8 000 varv/min) i tre minuter eller tills lysatet fullständigt passerat. Placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ett annat rent tvättrör (WT) och fortsätt med steg 10 i protokollet på sida 32.

**i** Om lysatet fortfarande inte passerar genom membranet under centrifugering ska du kassera provet och upprepa isoleringen och reningen med nytt provmaterial med början vid steg 1 på sida 31.

11. Applicera 750 µl tvättbuffert 1 (AW1) till QIAamp Mini Spin-kolonn utan att blöta ned kanten. Undvik att vidröra membranet på QIAamp Mini Spin-kolonn med pipettspetsen. Låt locket på kolonnen vara öppet och öppna huvudvakuumventilen. När tvättbuffert 1 (AW1) har passerat genom QIAamp Mini Spin-kolonn stänger du huvudvakuumventilen och öppnar ventilen med skruvlock på vakuumgrenröret för att lufta grenröret. Stäng ventilen med skruvlock när vakuomet har avlägsnats från grenröret.



12. Applicera 750 µl tvättbuffert 2 (AW2) till QIAamp Mini Spin-kolonn utan att blöta ned kanten. Undvik att vidröra membranet på QIAamp Mini Spin-kolonn med pipettspetsen. Låt locket på kolonnen vara öppet och öppna huvudvakuumventilen. När tvättbuffert 2 (AW2) har passerat igenom QIAamp Mini Spin-kolonn stänger du huvudvakuumventilen och öppnar ventilen med skruvlock på vakuumgrenröret för att lufta grenröret. Stäng ventilen med skruvlock när vakuuet har avlägsnats från grenröret.
13. Stäng locket på QIAamp Mini Spin-kolonn, ta bort den från vakuumsystemet och kasta VacConnector (VC). Placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ett rent tvättrör (WT) och centrifugera med maximal hastighet (cirka 20 000 x g eller 14 000 varv/min) i tre minuter för att fullständigt torka membranet.
- ❗ Uteslutning av torrcentrifugeringen kan leda till inhibering av efterföljande analys.
14. Placera QIAamp Mini Spin-kolonn i ett nytt elueringsrör (ET) och kassera tvättröret (WT) som innehåller filtratet. Öppna försiktigt locket till QIAamp Mini spin-kolonnen och tillsätt 50 till 200 µl elueringsbuffert (AE) i mitten av membranet.
- ❗ Det är viktigt att använda ett nytt elueringsrör för (ET) att undvika kontaminering med kvarvarande tvättbuffertar vilket kan leda till hämning av nedströms analys.
  - ❗ Dispensering av elueringsbuffert (AE) till mitten av membranet är särskilt viktigt vid mindre elueringsvolymmer för att tillse optimal hämtning av nukleinsyror och elueringsbuffert (AE).
15. Stäng locket och inkubera i rumstemperatur i en minut. Centrifugera vid 6 000 x g (8 000 varv/min) i en minut för att eluera DNA.
- ❗ Rikta locken på elueringsrören så att de pekar i motsatt riktning mot rotorns rotation (om t.ex. rotorn roterar medurs riktar du (ET) locken moturs).
  - ❗ Följ underhållsproceduren för vakuumsystemet när protokollet har utförts (se handboken som medföljer vakuumsystemet för mer information).

# Kvalitetskontroll

I enlighet med QIAGENs ISO-certifierade kvalitetshanteringsystem testas varje lot av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit mot förbestämda specifikationer för att garantera konstant produktkvalitet.

# Begränsningar

Systemets prestanda har fastställts med användning av helblod för isolering av genomiskt DNA.

Information om användning av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit finns i avsnittet Beskrivning och princip. Detaljerad information om den automatiska proceduren finns i avsnittet "Protokoll: Isolering och rening av genomiskt DNA från blodprov med en mikrocentrifug/automatiserad rening på QIAcube Connect MDx".

Det är användarens ansvar att validera systemegenskaperna för alla de procedurer som används i laboratoriet som inte ingår i QIAGENs egenskapsstudier.

För att minimera risken för negativ påverkan på diagnostiska resultat bör lämpliga kontroller för påföljande applikationer användas. För ytterligare validering rekommenderas riktlinjerna från International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) i ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology".

Eventuella diagnostiska resultat som erhålls måste tolkas tillsammans med övriga kliniska fynd eller laboratoriefynd.

# Prestandaegenskaper

Tillämpliga prestandaegenskaper finns under resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Felsökningshandbok

Den här felsökningshandboken kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som uppstår. Mer information finns på sidan Vanliga frågor (Frequently Asked Questions, FAQ) på vårt tekniska supportcenter: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Dessutom svarar QIAGEN teknisk service gärna på frågor om informationen och/eller protokollen i denna handbok eller prov- och analysmetoder (för kontaktinformation, besök [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Kommentarer och förslag

### Allmän hantering

- a) Blockering av pipettspetsar vid provöverföring
- Blanda blodproverna noggrant (t.ex. genom att vända rören flera gånger) innan provöverföring. Frysta prover ska tinas snabbt i ett vattenbad på 37 °C med lätt omrörning för att säkerställa en noggrann blandning och därefter utjämnas till rumstemperatur (15–25 °C) innan proceduren inleds.
- Försök att undvika blodklumpar i proven och överför provet utan klumpar. Kryoprecipitat som bildats under upptining av frysta prover täpper till membranet i QIAamp Mini Spin-kolonn och kan leda till problem under den automatiska proceduren.
- b) Blockerad QIAamp Mini Spin-kolonn
- Centrifugeringsarbetsflöde:
- Om lysatet inte har passerat genom membranet fullständigt efter centrifugering i 6 000 × g (8 000 rpm) centrifugerar du igen i full hastighet (upp till 20 800 × g) i 1 min.
- Om lysatet fortfarande inte passerar genom membranet under centrifugering ska du kassera provet och upprepa isoleringen och reningen med nytt provmaterial med början vid steg 1.
- Vakuumarbetsflöde:
- Om flödeshastigheten minskar kan vakuumtiden förlängas.
- Alternativt kan du stänga VacValve om den används och försiktigt ta bort VacConnector-VacValve-anordningen från QIAamp Mini Spin-kolonn utan att förlora något lysat.
- Ta bort QIAamp Mini Spin-kolonn från vakuumbgrenröret, placera det i ett 2 ml tvåtrör och centrifugera det med full hastighet tills provet helt har passerat genom membranet. Sätt tillbaka VacConnector-VacValve-anordningen som innehåller det kvarvarande lysatet. Slå på vakuumpumpen, öppna VacValve och fortsätt att tillsätta det kvarvarande lysatet.
- Upprepa ovanstående procedur om QIAamp Mini Spin-kolonn fortsätter att blockeras.
- Om lysatet fortfarande inte passerar genom membranet under centrifugering ska du kassera provet och upprepa isoleringen och reningen med nytt provmaterial med början vid steg 1.

## Kommentarer och förslag

---

### Allmän information

Kryoprecipitat kan ha bildats på grund av upprepad frysning och upptining. Dessa kan blockera QIAamp Mini Spin-kolonn. Använd inte blodprov som har frysts och tinats mer än 3 gånger. Frysta prover ska tinas snabbt i ett vattenbad på 37 °C med lätt omrörning för att säkerställa en noggrann blandning och därefter utjämnas till rumstemperatur (15-25°C) innan proceduren inleds.

- c) Precipitat har bildats i lyseringsbuffert (AL) Lös upp genom att inkubera lyseringsbuffert (AL) i 56 °C.
- d) Varierande elueringsvolymen Utbytesvolymen av eluatet beror på provets natur.  
På grund av den kvarvarande elueringsbuffert (AE) som kvarstår i spinnkolonnens membran efter centrifugering kan återhämtad eluatvolym vara mindre än volymen elueringsbuffert som tillsatts kolonnen.  
Tillsätt elueringsbuffert (AE) till mitten av membranet. Dispensering av elueringsbuffert (AE) till mitten av membranet är särskilt viktigt vid mindre elueringsvolymen för att tillse optimal hämtning av nukleinsyror och elueringsbuffert (AE).
- e) Vakuumtryck på ungefär 800–900 mbar uppnåddes inte Vakuimgrenröret sluter inte tätt. Tryck på locket på vakuimgrenröret när vakuumpumpen är på. Kontrollera om vakuumtrycket uppnås. Packningen i QIAvac-locket är utsliten. Kontrollera grenrörets försegling manuellt och byt ut den vid behov.  
VacValves är utslitna. Ta bort alla VacValves och sätt in VacConnectors (VC) direkt i luerförlängningarna. Sätt in QIAamp Mini Spin-kolonn i VacConnectors (VC), stäng kolonnernas lock och slå på vakuumpumpen. Kontrollera om vakuumtrycket uppnås. Byt ut VacValves vid behov.  
Anslutningen till vakuumpumpen läcker. Stäng alla luerförlängningar med luerlock och slå på vakuumpumpen. Kontrollera att vakuumtrycket är stabilt efter att pumpen har slagits på (och Vacuum Regulator-ventilen är stängd). Byt ut anslutningarna mellan pumpen och vakuimgrenröret vid behov.  
Om vakuumtrycket fortfarande inte uppnås bör vakuumpumpen ersättas med en starkare pump.
- f) Vid problem i det automatiserade arbetsflödet Referera till *Bruksanvisningen för QIAcube Connect MDx* (som du hittar under resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

---

### Lågt DNA-utbyte

- a) Ofullständig provlysering Om QIAGEN Protease (QP) utsatts för förhöjd temperatur under en längre tid kan det förlora aktivitet. Upprepa proceduren med nya prover och färskt QIAGEN Protease (QP).  
Se till att du löser upp QIAGEN Protease (QP) med proteaslösning (PS) i enlighet med anvisningarna ovan. Blanda genom att vända flaskan flera gånger för att undvika skumbildning. Se till att QIAGEN Protease (QP) är fullständigt upplöst. Tillsätt inte QIAGEN Protease (QP) direkt till lyseringsbuffert (AL).

## Kommentarer och förslag







		Det är viktigt att prov och lyseringsbuffert (AL) blandas noggrant för att garantera effektiv lysering och ge en homogen lösning. Eftersom lyseringsbuffert (AL) har hög viskositet bör du se till att rätt volym lyseringsbuffert (AL) tillsätts genom noggrann pipettering och genom att använda en lämplig pipett.
b)	Etanol med låg procent användes istället för 96-100%	Upprepa reningsförloppet med nya prover och 96–100 % etanol. Använd inte denaturerad alkohol som innehåller andra substanser, såsom metanol eller metyletylketon.
c)	Buffer AW1 eller Buffer AW2 är felaktigt förberedda	Se till att Buffer AW1- och Buffer AW2-koncentrat har spänts med rätt volym 96–100 % etanol och blandats genom att vända flaskan flera gånger innan du startar proceduren.
d)	Blodprover förvarades inte korrekt	Utbyte och kvalitet av renat DNA beror på blodets förvaringsförhållanden. Färskare blodprover kan ge bättre resultat. För korttidsförvaring på upp till 10 dagar rekommenderar vi förvaring vid 2–8 °C. För applikationer som kräver maximal fragmentstorlek, t.ex. southern blotting, rekommenderar vi emellertid förvaring vid 2–8 °C i endast upp till 3 dagar, eftersom låga nivåer av DNA-nedbrytning sker efter denna tidpunkt. För långvarig förvaring (mer än 10 dagar) ska blodet samlas in i rör innehållande en standardantikoagulant (företrädesvis EDTA om DNA med hög molekylärvikt krävs) och förvaras vid -20 eller -80 °C.
e)	Frusna blodprover blandades inte korrekt efter tining	Frysta prover ska tinas snabbt i ett vattenbad på 37 °C med lätt omrörning för att säkerställa en noggrann blandning och därefter utjämnas till rumstemperatur (15–25 °C) innan proceduren inleds.

### DNA presterar inte bra i nedströmsreaktioner












a)	Lite eller ingen DNA i eluatet	Se Lågt DNA-utbyte ovan för möjliga orsaker. Öka mängden eluat som tillsätts till reaktionen om detta är möjligt.
b)	Felaktig elueringsvolym	Beräkna lämplig maxvolym för eluatet för din nedströmstillämpning. Minska eller öka eluatvolymen som tillsätts i nedströmstillämpningen därefter. Elueringsvolymen kan anpassas proportionerligt. Eluering med mindre volymer Buffer AE leder till högre koncentrationer av nukleinsyror, men kan leda till lägre totalt utbyte.
c)	Otillräcklig mängd DNA har använts	Kvantifiera renat DNA med spektrofotometrisk mätning av absorbansen vid 260 nm.
d)	För mycket DNA har använts	För mycket DNA kan hämma vissa enzymatiska reaktioner. Kvantifiera renat DNA med spektrofotometrisk mätning av absorbansen vid 260 nm.
e)	Överföring (carryover) av potentiell hämmare	Se till att utföra torrcentrifugeringssteget innan eluering för att förhindra potentiell hämning av nedströms analys. Det är viktigt att använda ett nytt elueringsrör för (ET) att undvika kontaminering med kvarvarande tvättbuffertar vilket kan leda till hämning av nedströms analys.



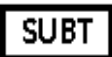


# Symboler

Nedanstående symboler finns i användningsinstruktionerna eller på förpackningar och etiketter:

Symbol	Symbolförklaring
 $\Sigma$ <N>	Innehåller reagens som räcker till <N> reaktioner
	Utgångsdatum
	Den här produkten uppfyller kraven i Europeisk Regel 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
	Vid ankomst
	Öppna vid leverans. Förvara QIAamp Mini Spin-kolonner vid 2–8 °C
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialnummer (dvs. komponentetikett)
	Komponenter



Symbol	Symbolförklaring
	Innehåller
	Antal
	GSI-artikelnnummer
Rn	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret
	Temperaturbegränsning
	Tillverkare
	Läs bruksanvisningen
	Volym
	Skriv ner aktuellt datum efter tillsats av etanol i flaskan
	Tillsätta
	Frystorkad
	Rekonstituera

Symbol	Symbolförklaring
	Etanol
	Guanidinhydroklorid
	Subtilisin
	Leder till
	Läs bruksanvisningen
	Viktig anmärkning
	Unik enhetsidentifierare

# Beställningsinformation

Produkt	Innehåll	Kat. nr
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	För 50 beredningar: QIAamp Mini Spinnkolonner, buffertar, reagenser, rör, VacConnectors	61104
Relaterade produkter		
QIAcube Connect MDx*	Instrument och ett års garanti på delar och arbete	9003070
Tillbehör		
QIAvac 24 Plus†	Vakuumbrenrör för bearbetning av 1–24 spinnkolonner: inkluderar QIAvac 24 Plus Vacuum manifold, Luerpluggar, snabbkopplingar	19413
Vacuum Pump (230 V, 50 Hz)†	Universell vakuumpump (kapacitet 34 liter/min, 8 mbar vakuumbesorption.)	84020
VacConnectors (500)†	500 kopplingar för engångsbruk för användning med QIAamp spinnkolonner på luerkopplingar	19407
VacValves (24)	24 ventiler för användning med QIAvac 24 och QIAvac 24 Plus	19408
Vacuum Regulator	För användning med QIAvac-grenrör	19530
QIAvac Connecting System	System för att ansluta vakuumbrenröret till vakuumpumpen: innehåller bricka, avfallsflaskor, slangar, kopplingar, ventil, mätenhet, 24 VacValves	19419
Rotor Adapters (10 x 24)	För 240 beredningar: 240 rotoradapterar för engångsbruk och 240 elueringsrör (1,5 ml) för användning med QIAcube Connect MDx	990394

Produkt	Innehåll	Kat. nr
Rotor Adapter Holder	Hållare för 12 rotoradapterar för engångsbruk, för användning med QIAcube Connect MDx	990392
Sample Tubes CB (2 ml)	1 000 konformade rör med skruvlock utan bred bas (2 ml) för användning med QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Pluggar till skakapparatställ (12)	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Reagensflaskor (30 ml) med lock, 6-pack, för användning med QIAcube Connect MDx	990393
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	Filterspetsar för engångsbruk, i ställ (8 x 128). För användning med QIAcube Connect MDx	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (1024)	Filterspetsar för engångsbruk, bred diameter, i rack (8 x 128), krävs inte för alla protokoll. För användning med QIAcube Connect MDx	990452
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Filterspetsar för engångsbruk, i ställ (8 x 128). För användning med QIAcube Connect MDx och QIASymphony SP/AS-instrumenten	990332

\* QIAcube Connect MDx finns inte tillgänglig i alla länder. Kontakta QIAGEN teknisk service för ytterligare information.

† För användning med vakuumprotokoll.

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i bruksanvisningen till respektive QIAGEN-kit. Bruksanvisningar för QIAGEN-kit finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGENS tekniska service eller din lokala återförsäljare.

# Dokumentrevisioner

Revision	Beskrivning
R1, juni 2022	<p>Version 3, Revision 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>● Uppdatering av sats version 3 för efterlevnad med IVDR</li><li>● Uppdatering av Beskrivning och princip</li><li>● Uppdatering av Material som medföljer (aktiva innehållsämnena har lagts till) samt av Material som krävs men som inte medföljer</li><li>● Uppdatering av Varningar och försiktighetsåtgärder (avsnitt med nödinformation och kassering har lagts till)</li><li>● Uppdatering av Förvaring och hantering av reagenser</li><li>● Uppdatering av Insamling, förvaring och hantering av prover</li><li>● Uppdatering av Viktiga anmärkningar och procedur</li><li>● Uppdatering av Begränsningar</li><li>● Uppdatering av Prestandaegenskaper</li><li>● Uppdatering av avsnittet Symboler</li><li>● Uppdatering av Beställningsinformation</li></ul>

Den här sidan har avsiktligt lämnats tom

### Begränsat licensavtal för QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Användning av denna produkt innebär att köpare eller användare av produkten godkänner följande villkor:

1. Produkten får endast användas i enlighet med de protokoll som medföljer produkten och den här handboken och får endast användas med komponenterna som ingår i panelen. QIAGEN ger ingen licens för någon av sina immateriella tillgångar för att använda eller inkludera komponenterna i denna panel med komponenter som inte ingår i denna panel förutom vad som beskrivs i de protokoll som medföljer produkten, den här handboken och ytterligare protokoll som finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Vissa av de här ytterligare protokollen har tillhandahållits av QIAGEN-användare för andra QIAGEN-användare. Dessa protokoll har inte testats noggrant eller optimerats av QIAGEN. QIAGEN garanterar inte att de inte kränker tredje parts rättigheter.
2. Förutom de uttryckligen angivna licenserna kan QIAGEN inte garantera att denna panel och/eller dess användning inte kränker tredje parts rättigheter.
3. Panelen och dess komponenter är licensierade för engångsbruk och får inte återanvändas, förbättras eller säljas vidare.
4. QIAGEN avsäger sig specifikt ansvar för alla andra licenser, uttryckliga eller underförstådda, förutom de uttryckligen angivna.
5. Köparen och användaren av panelen godkänner att inte tillåta någon annan att utföra något som kan leda till eller orsaka otillåtna situationer beskrivna ovan. QIAGEN kan kräva att detta avtal om begränsad licens upprätthålls i domstol, och ska ersättas för alla undersöknings- och rättegångskostnader, inklusive advokatkostnader, som uppstår vid försök att bestrida detta avtal om begränsad licens eller någon av de immateriella rättigheter som avser panelen och/eller någon av dess komponenter.

För uppdaterade licensvillkor, se [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

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

Jun-2022 HB-3030-001 1127543 © 2022 QIAGEN, med ensamrätt.

