

# QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA Blood Mini Kit Kézikönyv



2. Kiadás



**IVD** In vitro diagnosztikai használatra

**REF** 61104

**HB** 1071108HU

 QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

Tel: +49-2103-29-0

R2 **MAT** 1071108HU



## **QIAGEN Minta és Vizsgálati Technológiák**

A QIAGEN vezető szerepet játszik az innovatív minta- és vizsgálati technológiák terén, lehetővé téve bármely biológiai minta tartalmának izolálását és feltárását. Fejlett, magas színvonalú termékeink és szolgáltatásaink biztosítják a sikert a mintától az eredményig.

### **A QIAGEN irányadó az alábbi területeken:**

- DNS, RNS és fehérje tisztítás
- Nukleinsav és fehérje vizsgálatok
- mikro RNS kutatás és RNSi
- Minta- és vizsgálati technológiák automatizálása

Küldetésünk, hogy Ön kimagasló sikereket és áttöréseket érjen el.  
További információért látogasson el honlapunkra: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Tartalomjegyzék

<b>Tervezett felhasználás</b>	<b>4</b>
<b>Összefoglalás és magyarázat</b>	<b>4</b>
Vérsejtek lizálása	5
Genomiális DNS megkötése a QIAamp Mini spin oszlop membránjához	5
Automatizált tisztítás	6
<b>Biztosított anyagok</b>	<b>8</b>
A kit tartalma	8
Szükséges, de nem biztosított anyagok	9
<b>Biztonsági információk</b>	<b>10</b>
<b>Reagensek tárolása és kezelése</b>	<b>12</b>
<b>Mintakezelés és tárolás</b>	<b>12</b>
<b>Fontos megjegyzések</b>	<b>14</b>
A protokoll megkezdése előtti fontos tudnivalók	14
Reagensek és pufferek elkészítése	14
QIAamp Mini spin oszlopok kezelése	15
Genomiális DNS eluálása	16
A kinyert genomiális DNS mennyisége és minősége	16
A QIAvac 24 Plus vákuum rendszer összeállítása	16
Protokoll: Genomi DNS izolálása és tisztítása vérmintából, vákuum rendszer használatával	19
Protokoll: Genomi DNS izolálása és tisztítása vérmintából, mikrocentrifuga használatával	23
<b>Minőségellenőrzés</b>	<b>26</b>
<b>Teljesítményjellemzők</b>	<b>26</b>
Teljesítmény a további (downstream) vizsgálatokban	27
<b>Szimbólumok</b>	<b>32</b>
<b>Referenciák</b>	<b>33</b>
<b>Kontakt információ</b>	<b>34</b>
<b>Rendelési információ</b>	<b>35</b>

## Tervezett felhasználás

A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit egy szilika-membrán technológiát (QIAamp technológia) használó kit, amely biológiai mintákból történő DNS izolálására és tisztítására szolgál.

A termék szakemberek számára ajánlott, mint például technikusok és orvosok, akik képzettséggel rendelkeznek a molekuláris biológiai technikákban.

A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitet In-vitro diagnosztikai használatra ajánljuk.

## Összefoglalás és magyarázat

A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit egy már jól bejáratott technológia használatával nyújt segítséget abban, hogy 200 µl teljes vérből gyorsan és egyszerűen izoláljunk és tisztítsunk genomiális DNS-t.

A QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárásokat többféle vérminta egyidejű feldolgozására tervezték és használatra alkalmas tisztított DNS-t eredményeznek. Az eljárások friss vagy fagyasztott teljes vér mintára alkalmasak illetve EDTA-val vagy citráttal kezelt vérré.

Az egyszerű QIAamp DSP spin és vákuum eljárások többféle minta egyidejű feldolgozására alkalmasak. Némely QIAamp spin eljárás teljes mértékben automatizálható a QIAcube<sup>®</sup>-on, növelve a standardizálást és a könnyebb használatot (lásd a 6. oldalt).

Nincs szükség az eljárást megelőző leukocytá szeparálásra. Ahogy sem fenol/chloroformos kinyrésre, sem alkoholos kicsapásra és mindemellett minimális felhasználói beavatkozást igényel, könnyítve az esetlegesen fertőző minták biztonságos kezelését. Az eljárásokat úgy tervezték, hogy minimalizálják a minták közti keresztfertőzést. A tisztított DNS-t PCR reakcióban vagy egyéb applikációkban használhatjuk, esetleg  $-25^{\circ}\text{C}$  és  $-15^{\circ}\text{C}$  közti hőmérsékleten tárolhatjuk későbbi felhasználásra.

## A folyamat alapjai

Mindegyik QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárás 4 lépést tartalmaz:

- A vérmintában lévő sejtek lizálása
- A sejtlizátumban lévő DNS megkötése a QIAamp Mini spin oszlop membránjához
- A membrán mosása
- A genomiális DNA eluálása a membránról

Ez a kézikönyv 2 különböző QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárás protokollját tartalmazza: a spin eljárás, amelyhez centrifuga szükséges, és a vákuum eljárás, amelyhez centrifuga és vákuum rendszer szükséges (lásd a 7. oldali folyamatábrát).

### Vérsejtek lizálása

A mintákat denaturáló körülmények között emelt hőmérsékleten lizáljuk. A lízis QIAGEN Proteáz (QP) és Lízis Buffer (AL) jelenlétében zajlik le.

### Genomiális DNS megkötése a QIAamp Mini spin oszlop membránjához

Hogy a genomiális DNS QIAamp Mini spin oszlop membránjához történő megkötődését optimalizáljuk, a lizátumhoz először etanolt adunk. Ez után mindegyik lizátumot felvisszük a QIAamp Mini spin oszlopra, hogy a genomiális DNS adszorbeálódjon a szilika membránra, miközben a lizátumot vákuum nyomással vagy centrifugális erővel átszűrjük.

## Automatizált tisztítás

A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kittel történő DNS izolálást teljesen automatizálhatjuk a QIAcube-on. Az innovatív QIAcube fejlett technológiája révén képes a QIAGEN spin oszlopokat kezelni, elősegítve az automatizált, kis mennyiségű minta feldolgozás tökéletes összekapcsolását a laboratórium munkafolyamataival. A QIAcube-os minta preparálás ugyanazon lépéseket követi, mint a manuális eljárás (pl. lízis, megkötés, mosás és eluálás), elősegítve a felhasználót, hogy a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitet továbbra is használhassa nagy tisztaságú DNS tisztítására.

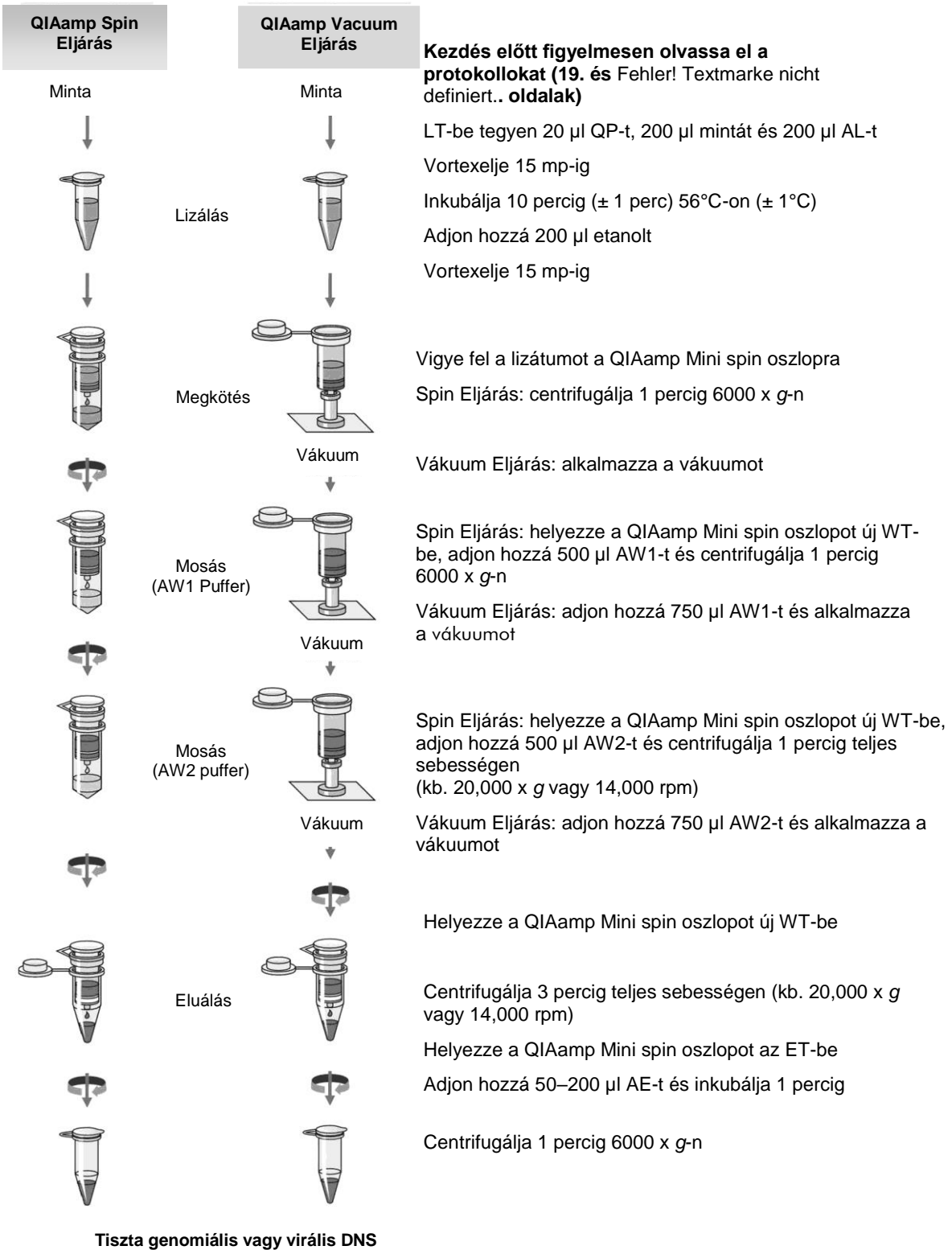
Az automatizált eljárásról a bővebben a [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube) oldalon tájékozódhat a vonatkozó protokoll lapon. A legfrissebb protokoll lapok ingyenesen letölthetők vagy beszerzésükhöz vegye fel a kapcsolatot a QIAGEN Technikai Szervíz Osztályával (lásd a 34. oldalt).

Amennyiben a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitet automatizálja a QIAcube berendezésen, előfordulhat, hogy a készülék 50-nél kevesebb mintát dolgoz fel a holttérfogatok, párolgás és az automatizált pipettázásból adódó reagens többlet felhasználás miatt. A QIAGEN csak akkor garantálja 50 minta feldolgozását, ha a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitet manuálisan használjuk.








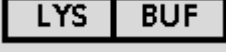







1. Ábra. A QIAcube.

## QIAamp DSP DNA Blood Mini Spin és Vákuum Eljárások



# Biztosított anyagok

## A kit tartalma

<b>QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit</b>			
<b>Kat. szám</b>		<b>61104</b>	
<b>Preparálások száma</b>		<b>50*</b>	
QIAamp Mini Spin	QIAamp Mini Spin Oszlopok Mosó Csövekkel (WT) (2 ml)		50
ET	Elúciós Csövek (1.5 ml)		50
VC	VacConnectorok		50
LT	Lízis Csövek (1.5 ml)		50
WT	Mosó Csövek (2 ml)		3 x 50
AL	Lízis Puffer <sup>†</sup>		12 ml
AW1	Mosó Puffer 1 <sup>†</sup> (koncentrátum)		19 ml
AW2	Mosó Buffer 2 <sup>‡</sup> (koncentrátum)		13 ml
AE	Elúciós Puffer <sup>‡</sup>		25 ml
PS	Proteáz Beoldó <sup>‡</sup>		2 ml
QP	QIAGEN Proteáz <sup>§</sup>		1 fiola
	CD		1
	Kézikönyv		1

\* Amennyiben a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitet automatizálja a QIAcube berendezésen, előfordulhat, hogy a készülék 50-nél kevesebb mintát dolgoz fel a holtterfogatok, párolgás és az automatizált pipettázásból adódó reagens többlet felhasználás miatt. A QIAGEN csak akkor garantálja 50 minta feldolgozását, ha a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitet manuálisan használjuk..

<sup>†</sup> Guanidin-hidrokloridot tartalmaz. Nem kompatibilis fehérítőt tartalmazó fertőtlenítőszerrel. További információért lásd a 11. oldalt.

<sup>‡</sup> Tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz.

<sup>§</sup> Beoldási térfogat 1.2 ml. Lásd "QIAGEN Proteáz elkészítése" a 14 oldalon.



## Szükséges, de nem biztosított anyagok

Kémiai anyagokkal történő munka során mindig megfelelő laboratóriumi ruházatot szükséges viselni, eldobható kesztyűket, és védőszemüveget. További információkat a vonatkozó biztonsági adatlapokból (MSDSs) tudhat meg, mely a termék forgalmazójától szerezhető be.

### Spin és vákuum eljárásokhoz

- Etanol (96–100%)
- Pipetták\* és pipettahegyek (hogy a kereszt szennyeződést megakadályozzuk, használjon szűrős pipettahegyeket)
- Eldobható kesztyűk
- Fűthető blokk\* a minták 56°C-os líziséhez (Eppendorf® Thermomixer comfort-ot ajánlunk 1.5 ml-es micro teszt csövekhez való thermoblokkal †)
- Microcentrifuga\*
- Mérőhenger (50 ml)
- Vortex

### Csak a vákuumos eljárásokhoz

- QIAvac 24 Plus vákuum rendszer (QIAvac 24 Plus, kat. sz. 19413, QIAvac Connecting System, kat. sz. 19419, és Vákuum Pumpa, kat. sz. 84020), vagy egy ennek megfelelő általános labor vákuum rendszer

\* Hogy biztosítsuk a minták QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárásokkal történő megfelelő feldolgozását, ajánljuk, hogy az egyes készülékek (pl. pipetták és fűtőblokkok) ellenőrzése és kalibrálása a gyártó javaslatainak megfelelően.

† A beszállítók listája nem teljes és nem tartalmazza több fontos biológiai gyártó termékeit sem.

## Biztonsági információk

Kémiai anyagokkal történő munka során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. További információkért olvassa el a megfelelő anyagbiztonsági adatlapokat (MSDSs). Ezek online elérhetőek praktikus és tömör PDF formátumban a [www.qiagen.com/support/MSDS.aspx](http://www.qiagen.com/support/MSDS.aspx) oldalon, ahol megtalálható, olvasható és kinyomtatható az MSDS az egyes QIAGEN kitekre és kit komponensekre vonatkozóan.

**VIGYÁZAT: NE öntsünk sem fehérítőt, sem savas oldatot a mintatisztítás során keletkezett hulladékhoz.**

A Lízis Puffer (AL) és a Mosó Puffer 1 (AW1) guanidin hidrokoridot tartalmaz, amely fehérítővel vegyítve erősen reaktív elegyet képezhet. Amennyiben ezen puffereket tartalmazó oldat kiömlik, azt megfelelő laboratóriumi fertőtlenítővel és vízzel tisztítsa le. Amennyiben a kiömlött folyadék fertőző ágens tartalmaz, tisztítsa le laboratóriumi fertőtlenítővel és vízzel, majd 1 %-os (v/v) nátrium-hipokloriddal. Amennyiben a puffertartó palackok sérültek vagy szivárognak, viseljen kesztyűt és védőszemüveget kidobásuk alkalmával, hogy elkerülje az esetleges személyi sérüléseket.

A QIAGEN nem tesztelte a QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárások során keletkező folyékony hulladékot maradék fertőző anyagra vonatkozóan. A folyékony hulladék maradék fertőző anyaggal történő szennyezettsége nem jellemző, de nem zárható ki teljesen. Ezért a folyékony hulladék fertőző anyagnak tekintendő és vonatkozó helyi biztonsági előírásoknak megfelelően kell kezelni.

Az alábbi kockázati és biztonsági kitételek vonatkoznak a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit egyes összetevőire.

#### **Lízis Puffer (AL) és Mosó Puffer 1 (AW1)**



Guanidin-hidrochloridot tartalmaz: káros, irritáló. Kockázati és biztonsági kitételek:\* R22-36/38, S13-26-36-46.

#### **QIAGEN Proteáz (QP)**



Subtilisin-t tartalmaz: érzékenységet okozó, irritáló. Kockázati és biztonsági kitételek:\* R37/38-41-42, S22-24-26-36/37/39-46.

### **24 órás sürgősségi információ**

Sürgősségi, egészségügyi információt angolul, franciául és németül kaphat 24 órán keresztül:

Poison Information Center Mainz, Németország

Telefon: +49-6131-19240

\* R22: Lenyelve káros; R36/38: Irritáló a szem és a bőr számára; R37/38 Irritáló a légzőrendszer és a bőr számára; R41: Súlyos szemkárosodást okozhat; R42: Belélegezve szennyezést okozhat; S13: Ételtől, italtól és állatedeltől távol tartandó; S22: Ne lélegezze be a port; S24: Kerülje a bőrrel való érintkezést; S26: szemmel történő érintkezés esetén öblítse ki azonnal bő vízzel a szemet és kérjen orvosi tanácsot; S36: viseljen megfelelő védőruházatot; S36/37/39: viseljen megfelelő védőruházatot; S46: Ha lenyelte, azonnal kérjen orvosi tanácsot (mutassa a címkét, ha van ilyen).

## Reagensek tárolása és kezelése

A QIAamp Mini spin oszlopokat a megérkezéskor 2-8 °C-on kell tárolni. Megfelelő tárolás esetén az oszlopok a lejáratí időig stabilak.

Minden puffert szobahőmérsékleten lehet tárolni (15-25 °C) és a kiten jelzett lejáratí időpontig stabilak.

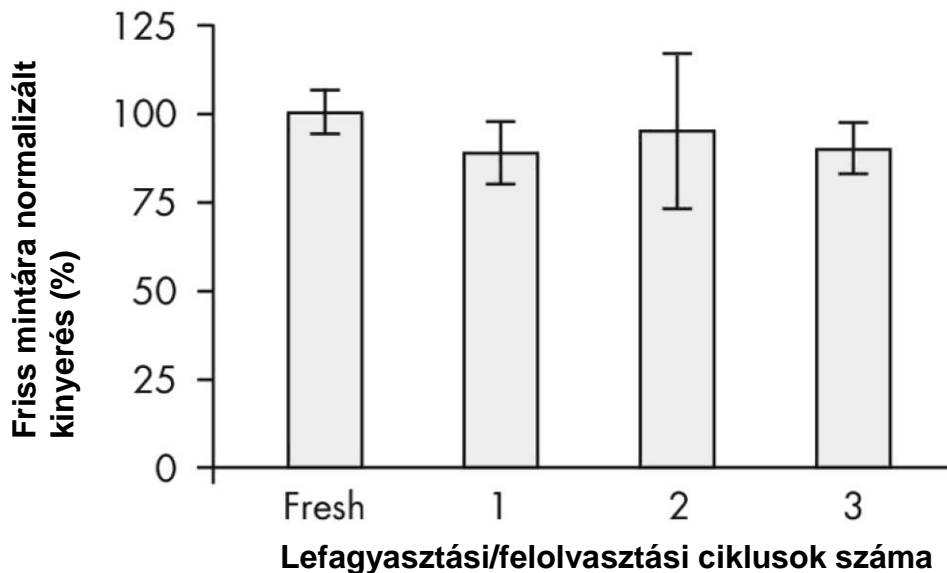
A liofilizált QIAGEN Proteáz (QP) szobahőmérsékleten (15-25 °C) tárolható a kiten jelzett lejáratí időpontig, teljesítmény romlás nélkül.

A feloldtott QIAGEN Proteáz (QP) 1 évig stabil, ha 2-8 °C-on tároljuk, de csak a kiten jelzett lejáratí határidőig.

A bekevert Mosó Puffer 1 (AW1) és a szintén bekevert Mosó Puffer 2 (AW2) 1 évig stabil, ha szobahőmérsékleten (15-25 °C) tároljuk, de csak a kiten jelzett lejáratí határidőig.

## Mintakezelés és tárolás

A fagyasztott minták felolvasztásakor keletkező kriokicsapódás eltömíti a QIAamp Mini spin oszlop membránját. Amennyiben ezek a kriokicsapódások láthatóak, ne szívja fel őket a minták felszívásakor. A vérminták lefagyasztásának és felolvasztásának DNS tisztításra gyakorolt hatásait a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit esetében az alábbi módon határozták meg (lásd a 2. Ábrát).



**2. Ábra. A vérminták lefagyasztásának és felolvasztásának hatásai.** EDTA-val kezelt vér 3x lefagyasztva és felolvasztva, majd abból DNS tisztítása QIAamp DSP DNA Blood Mini Kittel. A kikalkulált DNS kinyeréseket a friss mintából származó kinyerésre (100 %) normalizálták. A grafikon mindegyik oszlopa 32 ismétlés adatának felel meg (átlag ± standard szórás).

A QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárásokkal tisztított DNS mennyisége mindegyik vérminta esetében a fehérvérsejt tartalomtól függ. Mind a spin, mind a vákuumos eljárás során 200 µl egészséges donorból származó vérből tisztítjuk a DNS-t. A QIAamp DSP DNA Blood Mini eljárásokhoz történő vér gyűjtésére különböző primer tubusok és véralvadásgátlók használhatók (1. Táblázat).

**1. Táblázat. Átlagos viszonyított DNS kinyerések különböző primer tubusokban és véralvadásgátlókkal gyűjtött vérminták esetében**

Primer tubus	Gyártó	Kat. sz.	Névleges térfogat	Átlagos kinyerés*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6.4 µg
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6.6 µg
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6.4 µg
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6.5 µg
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8.5 ml	6.3 µg
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6.5 µg
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6.3 µg

Genomiális DNS 200 µl egészséges donor vér mintából tisztítva ( $4.0 \times 10^6$  sejt/ml-től  $9.0 \times 10^6$  sejt/ml-ig).

\* Az átlagos kinyerés 11 triplikátum minta alapján került meghatározásra mindegyik primer cső esetén.

**Maradék szennyeződés eltávolítása**

Amíg a genomiális DNS kikötődik a QIAamp Mini Spin Oszlop membránján, a szennyeződéseket az 1-es Mosó Pufferrel (AW1) és a 2-es Mosó Pufferrel (AW2) kimossuk.

**Tiszta genomiális DNS eluálása**

A genomiális DNS-t 50-200 µl Elúciós Pufferrel (AE) eluáljuk a QIAamp Mini Spin Oszlop membránjáról. Az eluált DNS így felhasználásra kész a különböző downstream assay-kben, beleértve az in vitro diagnosztikus downstream assay-k sokaságát.

## Fontos megjegyzések

### A protokoll megkezdése előtti fontos tudnivalók

- Miután a kitet megkapta, ellenőrizze, hogy valamely összetevő nem sérült-e. Ha a fóliázott csomagolások vagy a puffer palackok sérültek, keresse fel a QIAGEN Technikai Szervizét vagy a helyi disztribútort. Folyadék kiömlés esetén, hivatkozzon a “Biztonsági Információk” részre (10. oldal). Ne használjon sérült kit összetevőket, mert az csökkentett működéshez vezethet.
- Az egyes folyadékátvitel között mindig cseréljen pipettahegyet. Hogy a keresztaszennyezés esélyét csökkentse, ajánlatos szűrős pipettahegyeket használni.
- Mindegyik centrifugáló lépést szobahőmérsékleten (15–25°C) végezzük.
- Mindig használjon eldobható kesztyűt és rendszeresen ellenőrizze, hogy nem szennyezettek-e mintával. A beszennyezett kesztyűt dobja el.
- Hogy a keresztaszennyezés esélyét csökkentse, egyszerre csak egy csövet nyissunk ki.
- Ne használjunk másik kitből származó összetevőket az aktuálisan használt kittel együtt, ha csak nem azonos a lot számuk.
- Kerüljük el a kit reagenseinek mikrobiális szennyezését.
- Hogy a potenciális fertőző anyagtól származó fertőzést megakadályozzuk, a minták lizálásáig ajánlatos lamináris fülke alatt dolgozni.
- Ezt a kitet csak in vitro laboratóriumi diagnosztikus gyakorlattal rendelkezők használhatják.

### Reagensek és pufferek elkészítése

#### ■ QIAGEN Proteáz elkészítése

Adjunk 1.2 ml Proteáz Beoldót (PS) a liofilizált QIAGEN Proteáz (QP) csőbe és óvatosan keverjük meg. Hogy a habzást elkerüljük, fordítsuk fel-le néhányszor a fiolát. Győződjünk meg róla, hogy a QIAGEN Proteáz (QP) teljesen feloldódott.



Ne tegyük a QIAGEN Proteáz (QP) közvetlenül a Lizis Puffer-hez (AL).

#### ■ Mosó Puffer 1 elkészítése

Mérőhengert használva, adjunk 25 ml etanolt (96–100%) a 19 ml Mosó Puffer 1 (AW1) koncentrátumot tartalmazó palackba. A beoldott Mosó Puffer 1-et (AW1) szobahőn (15–25°C) tároljuk.

- i** Az eljárás megkezdése előtt a beoldott Mosó Puffer 1-et (AW1) mindig keverjük meg a palackot néhányszor fel-le fordítva.

### ■ **Mosó Puffer 2 elkészítése**

Mérőhengert használva, adjunk 30 ml etanolt (96–100%) a 13 ml Mosó Puffer 2 (AW2) koncentrátumot tartalmazó palackba. A beoldott Mosó Puffer 2-t (AW2) szobahőn (15–25°C) tároljuk.

- i** Az eljárás megkezdése előtt a beoldott Mosó Puffer 2-t (AW2) mindig keverjük meg a palackot néhányszor fel-le fordítva..

### ■ **Elúciós Puffer elkészítése**

A kithoz egy palack Elúciós Puffer (AE) biztosított. Hogy az Elúciós Puffer (AE) beszennyeződését megakadályozzuk, pipettázásakor fokozottan ajánlott szűrős pipettahegyek használata illetve a palack kupakját rögtön a pipettázás után csavarjuk vissza.

- i** Az Elúciós Puffer (AE) tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz, amelynek fényelnyelése 260 nm-nél van. Ezért ha az eluátum DNS tartalmát 260 nm-es abszorbancia méréssel szeretnénk meghatározni, figyeljünk arra, hogy akár 260 nm és 280 nm közti tartományban mérjük az eluátum DNS-ének tisztaságát, akár 220 nm és 350 nm közti tartományban mérünk abszorbanciát, a vak(oldat) nátrium-azid koncentrációja megegyezzen az eluátumban levőével. Például ha az abszorbancia méréshez 50 µl eluátumot 100 µl vízzel hígítunk, a vak(oldat)ot is 50 µl Elúciós Puffer (AE) 100 µl vízzel történő hígításával kell elkészítenünk. A hígításokhoz friss desztillált vizet használjunk.

## **QIAamp Mini spin oszlopok kezelése**

A nukleinsav amplifikációs technológiák érzékenysége miatt, az alábbi óvintézkedésekre feltétlenül figyeljünk a QIAamp Mini spin oszlopok használatakor, hogy az egyes mintafeldolgozások közti keresztfertőzést elkerüljük:

- A mintát vagy a folyadékot óvatosan vigye fel a QIAamp Mini spin oszlopra. A mintát úgy pipettázza bele a QIAamp Mini spin oszlopba, hogy az oszlop pereme ne legyen nedves.
- Az egyes folyadékátvitel között mindig cseréljen pipettahegyet. Ajánlatos szűrős pipettahegyeket használni.
- Ügyeljük arra, hogy a pipettahegy ne érintkezzen a QIAamp Mini spin oszlop membránjával.
- Mindegyik rövid vortexelési lépés után röviden centrifugáljuk le a mikrocentrifuga csöveket, hogy a kupakjukban lévő cseppeket eltávolítsuk.

- Egyszerre csak egy QIAamp Mini spin oszlopot nyissunk ki és óvakodjunk aeroszolak képzésétől.
- A teljes eljárás során viseljük kesztyűt. Ha a kesztyű mintával érintkezik, azonnal cseréljük le.

## Genomiális DNS eluálása

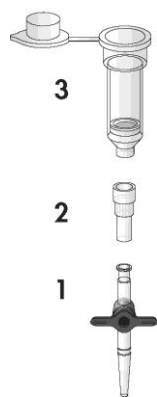
A QIAamp Mini spin oszlopról eluált DNS térfogata akár 20 µl-rel is kevesebb lehet az oszlopra felvitt Elúciós Puffer (AE) térfogatától. A kinyert eluátum térfogata a minta fajtájától/típusától függ. Az oszlopra történő felvitel előtt az Elúciós Puffert (AE) szobahőn ekvilibrártjuk (15–25°C). Az eluált DNS-t elúciós csövekben (ET) gyűjtjük össze. 4 héten belüli tárolás esetén 2–8°C-os tárolást javaslunk, hosszabb távú tárolás esetén pedig –20°C-ot.

## A kinyert genomiális DNS mennyisége és minősége

Az izolálással kinyert genomiális DNS mennyisége és minősége sokféle molekuláris diagnosztikai downstream detektálási applikációban/eljárásban felhasználható. A diagnosztikus assay-eket a gyártó előírásai alapján végezzük el.

## A QIAvac 24 Plus vákuum rendszer összeállítása

Győződjön meg róla, hogy a QIAamp Mini spin oszlopot a VacConnector-t (VC) és a VacValve-t (szelepet) helyesen illesztette össze (lásd a 3. Ábrát).



**3. Ábra. A QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit egyes elemeinek összeillesztése a minták vákuumos feldolgozásához.**

1. VacValve (szelep)(a vákuum rendszerrel együtt csomagolva)
2. VacConnector (VC)
3. QIAamp Mini spin oszlop

Amennyiben a vákuumos eljárást alkalmazzuk a QIAvac 24 Plus vákuum rendszert használva, javasoljuk, hogy a lízis csöveket (LT), az elúciós csöveket (ET) és a QIAamp Mini spin oszlopokat a 4. ábrán (lásd a következő oldalon) szereplő elrendezés alapján számozzuk/jelöljük, hogy elkerüljük a



minták összekeverését. Az ábrát lefénymásolva a minták nevei is bejelölhetők. Más vákuum rendszer illetve a spin eljárás alkalmazása esetén is hasonló elrendezést ajánlunk.

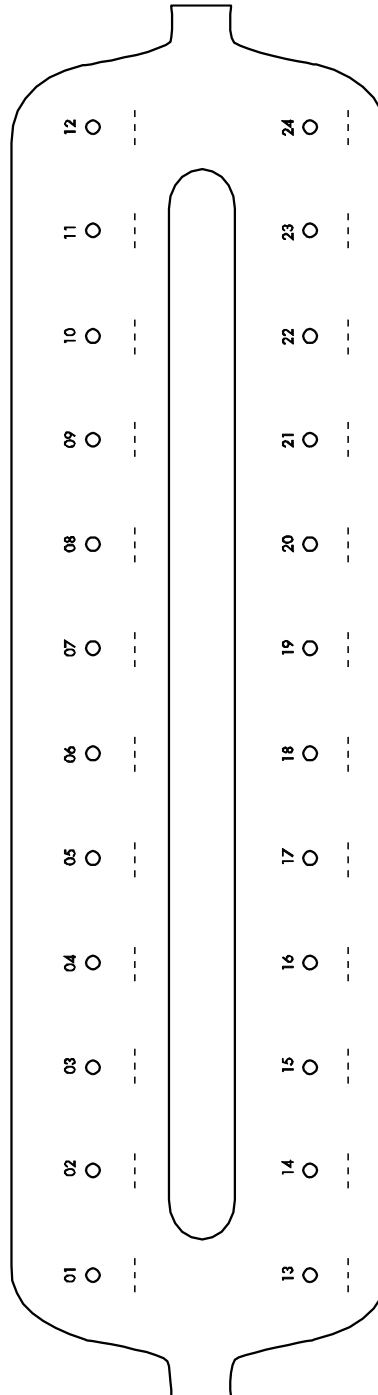
Dátum:

---

Felhasználó:

---

Futás azonosító: \_\_\_\_\_



**4. Ábra. A lízis csövek (LT), elúciós csövek (ET) és a QIAamp Mini spin oszlopok számozásának/jelölésének elrendezése a QIAvac 24 Plus vákuum rendszerrel történő használathoz.**

## **Protokoll: Genomi DNS izolálása és tisztítása vérmintából, vákuum rendszer használatával**

Genomi DNS izolálására és tisztítására EDTÁ-val vagy citráttal kezelt 200 µl teljes vérmintából, vákuum rendszer, mint a QIAvac 24 Plus, használatával.

### **Kezdés előtti fontos szempontok**

- A következő protokoll egy vérminta kezelésére szolgál, azonban maximum 24 minta kezelhető egy időben a QIAvac 24 Plus vákuum rendszeren.

### **Kezdés előtti teendők**

- Engedjük felmelegedni a mintákat szobahőmérsékletre (ekvilibrálás) (15–25°C), és a minták legyenek megfelelően megkeverve.
- Amennyiben csapadék látható az AL lízis pufferben (AL Lysis Buffer), inkubáljuk a puffert 56°C-on, amíg a csapadék fel nem oldódik.
- Legyen megfelelően előkészítve a mosópuffer 1 (Wash Buffer 1, AW1), mosópuffer 2 (Wash Buffer 2, AW2), és a QIAGEN proteáz (QIAGEN Protease, QP), a használati utasítás "Reagensek és pufferek előkészítése" című pontja szerint (14. és 15. oldal).
- Az eluáló puffert (Elution Buffer, AE) engedjük felmelegedni szobahőmérsékletre (ekvilibrálás, 15–25°C-ra) a 14. lépésben való használatra.
- Állítsuk a fűtőblokkot 56°C-ra a 4-es lépéshez.
- A kereszt-kontamináció minimalizálására, helyezünk egy-egy VacConnector-t (VC) a vákuum rendszer minden egyes luer adapterébe.
- A QIAGEN – minőségellenőrzési protokollja szerint – a kit minden egyes sarzsára/lotjára funkcionális kibocsátási tesztet végez. Emiatt, a különböző sarzsokból származó egyedi reagenseket ne kombináljuk egymással.
- Ürítsük ki a vákuum rendszer hulladéktartályát és ellenőrizzük, hogy minden csatlakozó megfelelően illeszkedik.
- A vákuum rendszerrel kapcsolatos részletesebb információkért, különös tekintettel a karbantartásra, kérjük, használja a rendszerhez mellékelt kézikönyvet.

## Procedúra

1. **Pipetázzunk 20 µl QIAGEN Proteázt (QP) egy lizáló csőbe (LT).**

**i** Felhasználás előtt ellenőrizzük a visszaoldott proteáz lejárati idejét.

2. **Adjunk 200 µl vérmintát a lízis csőbe (LT).**
3. **Adjunk 200 µl Lízis puffert (Lysis Buffer, AL) a lízis csőhöz (LT), zárjuk rá a kupakot, majd pulzálva keverjük (vortex) 15 másodpercig.**

A hatékony lízishez elengedhetetlen, hogy a minta és lízis puffer alaposan összekeveredjen, és homogén oldat alakuljon ki.

**i** Mivel a lízis puffer (Lysis Buffer, AL) nagy viszkozitású, fontos, hogy megfelelő mennyiséget pipetázzunk ki. Ajánlott a lassú, óvatos pipetázás, vagy speciális pipetta használata.

**i** Ne adjuk a QIAGEN proteázt (QIAGEN Protease, QP) közvetlenül a lízis pufferhez (Lysis Buffer, AL).

4. **Inkubáljuk a mintát 56°C-on ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) 10 percig ( $\pm 1$  perc).**
5. **Centrifugáljuk a lízis csövet (LT)  $\geq 5$  másodpercig maximális sebességgel, hogy a kupak belsejében lévő csöppek a csőbe jussanak.**
6. **Adjunk 200 µl etanolt (96–100%) a lízis csőhöz (LT), zárjuk le a kupakot, alaposan keverjük össze a folyadékot pulzáló keveréssel (vortex)  $\geq 15$  másodpercig.**
7. **Centrifugáljuk a lízis csövet (LT)  $\geq 5$  másodpercig maximális sebességgel, hogy a kupak belsejében lévő csöppek a csőbe jussanak.**
8. **Helyezzük be a QIAamp Mini spin oszlopot a vákuum rendszer csatlakozójába (VacConnector, VC). Legyen zárva a fő vákuum szelep (a vákuum rendszer és vákuum cső elosztó között) és a menetes kupak-szelep (a cső elosztón). Kapcsoljuk be a vákuum szivattyút.**

**Dobjuk el a mosó csövet (WT) (2 mL) amelyben a QIAamp Mini spin oszlop áll.**

A vákuumot csak a csatoló rendszerre engedjük rá (ha van), nem pedig közvetlenül az elosztó csőre.

9. **A 7-es lépésből származó lizátum egészét tegyük rá a QIAamp Mini spin oszlopra, anélkül, hogy a peremet benedvesítenénk. Kerüljük, hogy a pipetta-hegy hozzáérjen a QIAamp Mini spin oszlop membránjához.**

① Amennyiben több mintát kezelünk egyszerre, egy időben, mindig csak egy lízis cső kupakját (LT) nyissuk ki.

**10. Nyissuk ki a fő vákuum szelepet. Miután a lizátum lefolyt a QIAamp Mini spin oszlopon, zárjuk el a fő vákuum szelepet és nyissuk ki a csavarmenetes szelepet a vákuum csőelosztón, hogy a vákuumot megszüntessük az elosztón. Zárjuk el a csavarkupakos szelepet, miután már megszűnt a vákuum a cső elosztóban.**

Miután lezártuk a fő vákuum szelepet, a vákuum csak a csatoló rendszerig (ha használjuk) jut el, a csőelosztóba nem.

① Használjuk a csőelosztó csavarkupakos szelepét, hogyha hirtelen akarjuk elengedni a vákuumot.

① Amennyiben egyszerre több QIAamp Mini spin oszlopot kezelünk, ajánlott a VacValve (egyedi vákuum szelep/csap) használata. Ha a spin oszlopból lefolyt a folyadék, kapcsoljuk le a vákuumot az adott oszlopról. Ez minimalizálja a vákuum lépés hosszát a folyamat során.

① Amennyiben a lizátum 10 perc után sem folyt át teljesen az oszlopon, a QIAamp Mini spin oszlopot helyezzük egy tiszta mosó/gyűjtő csőbe (WT), zárjuk le a kupakot és centrifugáljuk a csövet 6000 g-n (8000 rpm), három percig vagy ameddig a lizátum teljesen át nem folyik az oszlopon. Helyezzük a QIAamp Mini spin oszlopot megint egy tiszta gyűjtőcsőbe (WT) és folytassuk a protokoll 10. lépésével a 24. oldalon.

① Amennyiben a lizátum továbbra sem jut át az oszlopon, öntsük el a mintát és ismételjük meg a teljes izolálást, tisztítást új (friss) mintával az első lépéstől kezdve (20. oldaltól).

**11. Adjunk 750 µl mosópuffer 1-et (Wash Buffer 1, AW1) a QIAamp Mini spin oszlophoz anélkül, hogy a peremét benedvesítenénk. Kerüljük, hogy a pipetta hegye hozzáérjen az oszlop membránjához. Hagyjuk a kupakot nyitva és nyissuk ki a fő vákuum szelepet. Miután a mosópuffer 1 (Wash Buffer 1, AW1) átfolyt az oszlopon, zárjuk el a fő vákuum szelepet, nyissuk ki a csavarmenetes szelepet a csőelosztón, hogy a vákuumot megszüntessük a csőelosztón. Zárjuk el a csavarmenetes kupakot, miután a vákuum megszűnt a csőelosztóban.**

**12. Adjunk 750 µl mosópuffer 2-öt (Wash Buffer 2, AW2) a QIAamp Mini spin oszlophoz anélkül, hogy a peremét benedvesítenénk. Kerüljük, hogy a pipetta hegye hozzáérjen az oszlop membránjához. Hagyjuk a kupakot nyitva és nyissuk ki a fő vákuum szelepet. Miután a mosópuffer 2 (Wash Buffer 2, AW2) átfolyt az oszlopon, zárjuk el a fő vákuum szelepet, nyissuk ki a csavarmenetes szelepet a csőelosztón, hogy a vákuumot megszüntessük. Zárjuk el a**

csavarmentes kupakot, miután a vákuum megszűnt a csőelosztóban.

- 13. Zárjuk le a QIAamp Mini spin oszlop kupakját, szedjük le a vákuum rendszerről és dobjuk el a vákuum csatlakoztatót (VacConnector, VC). Helyezzük a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta mosó/gyűjtőcsőbe (WT) és centrifugáljuk maximális sebességen (kb. 20.000 g vagy 14.000 rpm/fordulat/perc) 3 percig, hogy a membránt teljesen kiszárítsuk.**

**i** A szárazra centrifugálás kihagyása a további (downstream) vizsgálatokban gátlást okozhat.

- 14. Helyezzük a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta eluáló csőbe (elution tube, ET), dobjuk el a szűrletet tartalmazó mosó/gyűjtőcsövet. Óvatosan nyissuk ki a QIAamp Mini spin oszlop kupakját és tegyünk 50-200 µl eluáló puffert (Elution Buffer, AE) a membrán közepére. Zárjuk le a kupakot és inkubáljuk a csövet (és puffert) szobahőmérsékleten (15-25°C-on) 1 percig. Ezután centrifugáljuk a csövet 6000 g-n (8000 rpm) 1 percig a DNS leoldásához (elúció).**

**i** A protokoll végrehajtása után tisztítsuk ki a vákuum rendszert. A vákuumos rendszer karbantartási részletei a hozzá csatolt kézikönyvben található.

## Protokoll: Genomi DNS izolálása és tisztítása vérmintából, mikrocentrifuga használatával

Genomi DNS izolálására és tisztítására EDTÁ-val vagy citráttal kezelt 200 µl teljes vérmintából, mikrocentrifuga használatával.

### Kezdés előtti fontos szempontok

- A következő protokoll egy vérminta kezelésére szolgál, azonban számos minta kezelhető egy időben. A kezelhető minták száma a használt mikrocentrifuga kapacitásától függ.

### Kezdés előtti teendők

- Engedjük felmelegedni a mintákat szobahőmérsékletre (ekvilibrálás) (15–25°C), és a minták legyenek megfelelően megkeverve.
- Amennyiben csapadék látható az AL lízis pufferben (AL, Lysis Buffer), inkubáljuk a puffert 56°C-on, amíg a csapadék feloldódik.
- Legyen megfelelően előkészítve a mosópuffer 1 (Wash Buffer 1, AW1), mosópuffer 2 (Wash Buffer 2, AW2), és a QIAGEN proteáz (QIAGEN Protease, QP), a használati utasítás "Reagensek és pufferek előkészítése" című pontja szerint (14. és 15. oldal).
- Az eluáló puffert (Elution Buffer, AE) engedjük felmelegedni szobahőmérsékletre (ekvilibrálás, 15–25°C-ra) a 15-ös lépésben való használatra.
- Állítsuk a fűtőblokkot 56°C-ra a 4-es lépéshez.
- A QIAGEN – minőségellenőrzési protokollja szerint – a kit minden egyes sarzsára/lotjára funkcionális kibocsátási tesztet végez. Emiatt, a különböző sarzsokból származó egyedi reagenseket ne kombináljuk egymással.

### Procedúra

1. **Pipetázzunk 20 µl QIAGEN Proteázt (QP) egy lizáló csőbe (LT).**



Felhasználás előtt ellenőrizzük a visszaoldott proteáz lejáratát idejét.

2. **Adjunk 200 µl vérmintát a lízis csőbe (LT).**
3. **Adjunk 200 µl Lízis puffert (Lysis Buffer, AL) a lízis csőhöz (LT), zárjuk rá a kupakot, majd pulzálva keverjük (vortex) 15 másodpercig.**

A hatékony lízishez elengedhetetlen, hogy a minta és lízis puffer alaposan összekeveredjen, és homogén oldat alakuljon ki.

- ⓘ Mivel a lízis puffer (Lysis Buffer, AL) nagy viszkozitású, fontos, hogy megfelelő mennyiséget pipettázunk ki. Ajánlott a lassú, óvatos pipettázás, vagy speciális pipetta használata.
- ⓘ Ne adjuk a QIAGEN proteázt (QIAGEN Protease, QP) közvetlenül a lízis pufferhez (Lysis Buffer, AL).
- 4. Inkubáljuk a mintát 56°C-on ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) 10 percig ( $\pm 1$  perc).**
  - 5. Centrifugáljuk a lízis csövet (LT)  $\geq 5$  másodpercig maximális sebességgel, hogy a kupak belsejében lévő csöppek a csőbe jussanak.**
  - 6. Adjunk 200  $\mu\text{l}$  etanolt (96–100%) a lízis csőhöz (LT), zárjuk le a kupakot, alaposan keverjük össze a folyadékot pulzáló keveréssel (vortex)  $\geq 15$  másodpercig.**
  - 7. Centrifugáljuk a lízis csövet (LT)  $\geq 5$  másodpercig maximális sebességgel, hogy a kupak belsejében lévő csöppek a csőbe jussanak.**
  - 8. A 7-es lépésből származó lizátum egészét tegyük rá a QIAamp Mini spin oszlopra, anélkül, hogy a peremet benedvesítenénk. Kerüljük, hogy a pipetta-hegy hozzáérjen a QIAamp Mini spin oszlop membránjához.**
- ⓘ Amennyiben több mintát kezelünk egyszerre, egy időben, mindig csak egy lízis cső kupakját (LT) nyissuk ki.
- 9. Zárjuk le a QIAamp Mini spin oszlop kupakját és centrifugáljuk kb. 6000 g-n 1 percig. Helyezzük a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta mosó/gyűjtő csőbe (WT) és dobjuk el a szűrletet tartalmazó csövet.**
- ⓘ Amennyiben a lizátum nem folyt át teljesen az oszlopon, a centrifugálás után (6000 g (8000 rpm), centrifugáljuk újra a mintát teljes sebességgel (egészen 20.800 g) 1 percig.
- ⓘ Amennyiben a lizátum továbbra sem jut át az oszlopon, öntsük el a mintát és ismételjük meg a teljes izolálást, tisztítást új (friss) mintával az első lépéstől kezdve (23 oldaltól).
- 10. Óvatosan nyissuk ki a QIAamp Mini spin oszlopot és adjunk 500  $\mu\text{l}$  mosópuffer 1-et (Wash Buffer 1, AW1) a QIAamp Mini spin oszlophoz anélkül, hogy a peremét benedvesítenénk. Kerüljük, hogy a pipetta hegye hozzáérjen az oszlop membránjához.**
  - 11. Zárjuk le a QIAamp Mini spin oszlop kupakját és centrifugáljuk kb. 6000 g-n 1 percig. Helyezzük a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta mosó/gyűjtő csőbe (WT) és dobjuk el a szűrletet tartalmazó csövet.**
  - 12. Óvatosan nyissuk ki a QIAamp Mini spin oszlopot és adjunk 500  $\mu\text{l}$  mosópuffer 2-öt (Wash Buffer 2, AW2) a QIAamp Mini spin**



oszlophoz anélkül, hogy a peremét benedvesítenénk. Kerüljük, hogy a pipetta hegye hozzáérjen az oszlop membránjához.

13. Zárjuk le a QIAamp Mini spin oszlop kupakját és centrifugáljuk maximális sebességen (kb. 20.000 g vagy 14.000 rpm/fordulat/perc) 1 percig. Helyezzük a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta mosó/gyűjtő csőbe (WT) és dobjuk el a szűrletet tartalmazó csövet.
14. Centrifugáljuk teljes sebességen (kb. 20.000g vagy 14.000 rpm/fordulat/perc) 3 percig, hogy a membránt teljesen kiszárítsuk.

**i** A szárazra centrifugálás kihagyása a további (downstream) vizsgálatokban gátlást okozhat.

15. Helyezzük a QIAamp Mini spin oszlopot egy tiszta eluáló csőbe (elution tube, ET), dobjuk el a szűrletet tartalmazó mosó/gyűjtőcsövet. Óvatosan nyissuk ki a QIAamp Mini spin oszlop kupakját és tegyünk 50-200 µl eluáló puffert (Elution Buffer, AE) a membrán közepére. Zárjuk le a kupakot és inkubáljuk a csövet (és puffert) szobahőmérsékleten (15-25°C-on) 1 percig. Ezután centrifugáljuk a csövet kb. 6000 g-n (8000 rpm) 1 percig a DNS leoldásához (elúció).

## Minőségellenőrzés

A QIAGEN – ISO tanúsított minőségellenőrzési protokolljának megfelelően – a QIAamp DSP DNA Blood Mini kit minden egyes sarzsára/lotjára funkcionális kibocsátási tesztet végez. A kitnek meg kell felelnie az előre meghatározott paramétereknek, így biztosítható a termék folyamatos minősége.

## Korlátozások

A rendszer teljesítményét teljes vérből történő genomi DNS izolálásával határozták meg.

A felhasználó felelőssége a rendszer teljesítményének validálása a laboratóriumban, amennyiben azokat (a körülményeket) nem fedik le a QIAGEN teljesítmény-vizsgálatok.

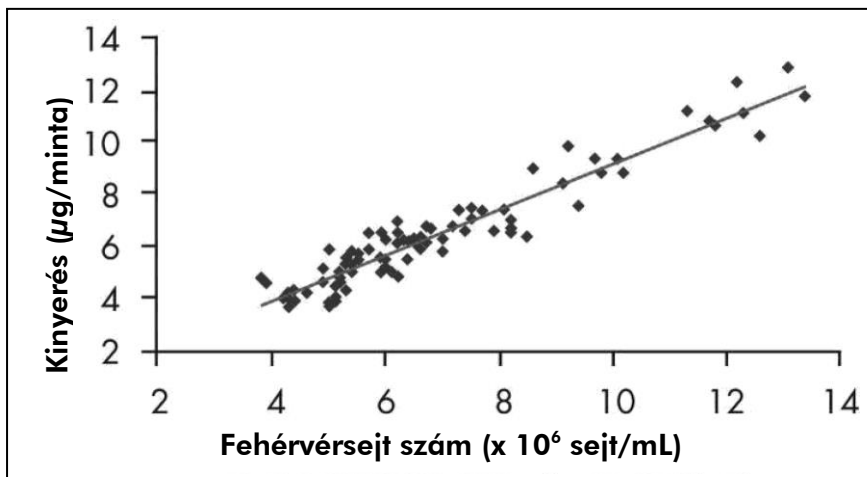
A diagnosztikai eredményre gyakorolt negatív hatás minimalizálásának érdekében, megfelelő negatív kontroll(oka)t kell használni a további (downstream) vizsgálatokban. További validálási kérdések esetén javasolt az "International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) in *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*" nemzetközi útmutatás használata.

A kit használatából származó bármilyen diagnosztikai eredményt, a klinikai és/vagy laboratóriumi eredmények figyelembevételével lehet értelmezni.

## Teljesítményjellemzők

### Tisztított DNS kinyerés

A DNS kinyerés lineáris tartományát a QIAamp DSP DNA Blood Mini kit és vákuum rendszer felhasználásával, egészséges donorok vérből történő DNS izolálással végezték, ahol a fehérvérsejtszám  $3,8 \times 10^6$  –  $1,34 \times 10^7$  sejt/mL között volt (lásd 5. ábra, 5. ábra 27. oldal).



**5. ábra DNS kinyerés lineáris tartománya QIAamp DSP DNA Blood Mini vákuum folyamat használatával 200 µl-es elúciós térfogattal.** Az egészséges donorok fehérvérsejt számát meghatározták, amely  $3,8 \times 10^6$  –  $1,34 \times 10^7$  sejt/mL között volt. A DNS izolálása a vérmintából a QIAamp DSP Blood Mini vákuum folyamattal történt, 200 µl-es elúciós térfogattal. 87 triplikátum mintából történt az izolálás.

## Teljesítmény a további (downstream) vizsgálatokban

Az eluált genomi DNS felhasználásra kész a további folyamatokhoz, beleértve számos *in vitro* diagnosztikai vizsgálatot (2-6. táblázat). Meghatározták az elúciós térfogat és a PCR-hez felhasznált eluátum mennyiségének hatását a PCR teljesítményre (lásd 7. táblázat).

**2. táblázat HLA tipizálás a Dynal® A//Set™ SSP vizsgálattal: HLA-A “kisfelbontás”, HLA-B “kisfelbontás”, DR “kisfelbontás”, és DQ “kisfelbontás”**

HLA lókuszt A		HLA lókuszt B		HLA lókuszt DR		HLA lókuszt DQ	
Genotípus	Sz.	Genotípus	Sz.	Genotípus	Sz.	Genotípus	Sz.
A2/A3	2	B51, B51/ B13, vagy B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 vagy DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 vagy B7/B15	1	DR7/DR15	2	DQ2/DQ5	1
A1/A2	2	B7/B18	1	DR4/DR15	1	DQ2/DQ5	2
A30/A68	1	B7/B44	1	DR4/DR7	1	DQ3	1
A2/A32	1	Más	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Más	0			DR15	1	Más	0
				DR1/DR7	1		
				Más	0		

A teljes vért egyedi donoroktól gyűjtötték. 200 µl vérből izoláltak DNS-t a QIAamp DSP DNA Blood Mini kittel. Az allélokot a Dynal A//Set™ SSP (Dynal Biotech) vizsgálattal azonosították a jelölt lókuszekben, a megjelölt számú egyedből. Az “**Sz.**” jelzi a vizsgált donorok számát.

### 3. táblázat Faktor V Leiden (FV) genotipizálás a LightCycler® Factor V Leiden Mutation Detection Kit-tel

Genotípus	Szám
Vad típus	17
FV G1691 A heterozigóta	13
FV G1691 A homozigóta	0

30 egyedi donorból gyűjtöttek teljes vérmintát. 200 µl teljes vérből DNS-t izoláltak a QIAamp DSP DNA Blood Mini kittel. Az FV G1691A lókuszt a LightCycler Factor V Leiden Mutation Detection Kit-tel (Roche Group) határozták meg.

### 4. táblázat Faktor V (FV) Leiden mutáció genotipizálás PCR és piro szekvenálás® kombinációjával, a PSQ-96 SNP-Reagent kit-tel, a PSQ 96 MA piro szekvenáló készüléken.

Genotípus	Szám
Vad típus	17
FV G1691 A heterozigóta	13
FV G1691 A homozigóta	0

30 egyedi donorból gyűjtöttek teljes vérmintát. 200 µl teljes vérből DNS-t izoláltak a QIAamp DSP DNA Blood Mini kittel. Az FV G1691A lókuszt a piro szekvenálással, a PSQ-96 SNP-Reagent kit-tel határozták meg a PSQ 96MA piro szekvenáló készüléken (Biotage).

**5. táblázat Protrombin (PT) genotipizálás PCR és piro szekvenálás analízissel a PSQ-Q96 SNP Reagent Kit felhasználásával a PSQ 96MA piro szekvenáló készüléken**

<b>Genotípus</b>	<b>Szám</b>
Vad típus	30
PT G20210A heterozigóta	0
PT G20210A homozigóta	0

30 egyedi donorból gyűjtöttek teljes vérmintát. 200 µl teljes vérből DNS-t izoláltak a QIAamp DSP DNA Blood Mini kittel. A PTG20210A lókuszt PCR és piro szekvenálás kombinációjával, a PSQ-96 SNP-Reagent kit-tel határozták meg a PSQ 96MA piro szekvenáló készüléken (Biotage).

**6. táblázat Az ApoE T112C és C158T polimorfizmus analízise PCR és ampikon szekvenálás kombinációjával a BigDye™ v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit-tel az ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer szekvenáló használatával**

<b>Genotípus</b>	<b>Szám</b>
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Más	0

10 egyedi donorból gyűjtöttek teljes vérmintát. 200 µl teljes vérből DNS-t izoláltak a QIAamp DSP DNA Blood Mini kittel. A T112C és C158T ApoE polimorfizmusok vizsgálatát PCR és ampikon szekvenálás kombinációjával határozták meg, a BigDye™ v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit-tel az ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Life Technologies Corporation) szekvenáló felhasználásával.

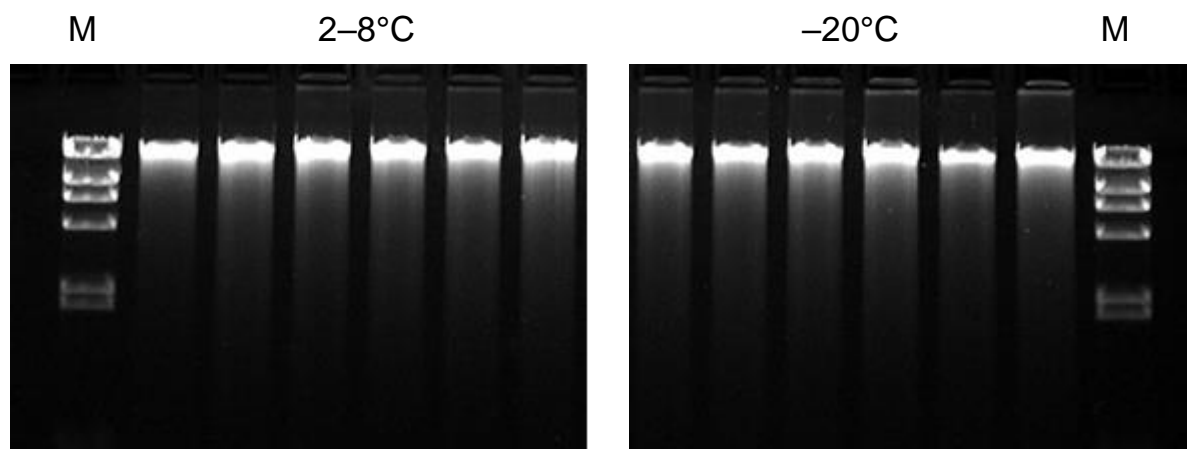
**7. táblázat Az elúciós térfogat és a PCR-ben használt eluátum mennyiségének hatása a PCR teljesítményre**

Elúciós térfogat	Eluátum térfogata 50 µl PCR* reakcióban		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100%	100%	100%
100 µl	100%	100%	97%
200 µl	100%	100%	100%

\* Az értékek a PCR találati arányt mutatják és 48 minta átlaga alapján kerültek meghatározásra.

**Eluátum stabilitás**

A QIAamp DNA Blood Mini kit – amely általános laboratóriumi kit és azonos technológiát használ – eluátumainak tárolási tesztjei azt mutatják, hogy a QIAamp DNA Blood Mini Spin oszlopról, AE elúciós pufferes leoldás után, az eluátumban lévő DNS 8 évig stabil akár 5°C-on, akár -20°C-on tárolják (6. ábra). Természetesen, a QIAamp DSP DNA Blood Mini kit eluátum hosszútávú stabilitási tesztje jelenleg folyamatban van.



**6. ábra A QIAamp DNA Blood Mini Spin oszloppal tisztított DNS hosszútávú stabilitása**

A DNS-t QIAamp DNA Blood Mini Kit-tel tisztították 200 µl AE pufferben és vagy 2-8°C-on vagy -20°C-on tárolták 8 éven keresztül. A DNS minták analizését etidium bromiddal festett agaróz gélben történő elválasztással végezték. **M**: molekulatömeg marker.

## Szimbólumok



<N> tesztre elegendő reagenst tartalmaz



Eddig felhasználandó



In vitro diagnosztikai orvosi készülék



Megérkezéskor



Leszállítás után kinyitni; tároljuk a QIAamp Mini spin oszlopokat 2–8°C-on



Katalógusszám



Lot (sarzs) szám



Anyagszám



Összetevők



Tartalmaz



Szám



Térfogat



Hőmérséklet korlátozás



Gyártó






Írja fel az aktuális dátumot az tartályra, az etanol hozzáadása után



Hozzáadás



<b>LYOPH</b>	Liofilizált
<b>RCNS</b>	Oldjuk vissza
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>GuHCl</b>	Guanidin-hidroklorid
<b>SUBT</b>	Szubtilizin
	Vezet ..-hoz/hez/höz
	Nézze meg a használati útmutatót
	Fontos megjegyzés

## Referenciák

A QIAGEN széleskörű, naprakész online adatbázissal rendelkezik a QIAGEN termékeivel kapcsolatos tudományos publikációkról. Az átfogó keresőfunkció által könnyen megtalálja a keresett cikket egy egyszerű kulcsszó beütésével vagy a szűkítő funkció segítségével – applikációra, kutatási területre, címre, stb. vonatkozólag.

A referenciák teljes listájáért kérjük, keresse fel a QIAGEN Referencia Online Adatbázist a [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) címen vagy konzultáljon a QIAGEN Technical Services-vel, vagy a helyi disztribútorával.

## Kontakt információ

A QIAGEN büszke az általa nyújtott technikai segítségnyújtás minőségére és elérhetőségére. A Technikai Szervíz Osztályon a minta és analízis technológiákban jártas és a QIAGEN termékekről kiterjedt gyakorlati és elméleti ismeretekkel rendelkező tudósok állnak rendelkezésre. Amennyiben a QIAamp DSP DNA Blood Mini kit-tel vagy egyéb QIAGEN termékkel kapcsolatban, kérdése van, vagy problémát tapasztal, forduljon hozzánk bizalommal.

A QIAGEN felhasználók a fő információ források a termékeink haladó vagy speciális felhasználásával kapcsolatban. Ezek az információk segítséget nyújtanak más tudósoknak, csakúgy, mint a QIAGEN-nél található kutatóknak. Ezek miatt bátorítjuk arra, hogy vegye fel velünk a kapcsolatot, ha a termékek teljesítményével kapcsolatban javaslata van vagy új alkalmazást vagy technikát fejlesztett ki.

Technikai segítségért illetve további információért kérjük, keresse fel a Technical Support Központot: [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support), vagy keresse a QIAGEN Technical Service Osztályt vagy helyi disztribútorát (lásd hátsó oldal vagy [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden, Germany

## Rendelési információ

Termék	Tartalom	Kat. sz.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	50 DNS minta izolálásához: QIAamp Mini Spin oszlopok, VacConnectors, QIAGEN Protease, Reagents, Buffers, és collection tubes	61104
<b>Kiegészítők</b>		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	Vákuum csőelosztó 1–24 spin oszlophoz: QIAvac 24 Plus Vacuum manifold, Luer Plugs, Quick Couplings	19413
Vacuum Pump*	Univerzális vákuum pumpa	84020

A legfrissebb licenc információért és termék specifikus jogi nyilatkozatért, kérjük, nézze meg a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvet, vagy használati utasítást. A QIAGEN kit kézikönyvek és használati útmutatók megtalálhatóak a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) címen, vagy lekérhetőek a QIAGEN Technical Service-től, vagy a helyi disztribútortól.

\* A vákuumos protokollhoz való használatra.

Védjegyek: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); ABI PRISM®, BigDye™ (Life Technologies Corporation); BD™, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One); Dynal®, *AllSet*™ (Dynal Biotech); Eppendorf® (Eppendorf AG); LightCycler® (Roche Group); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). Az ebben a dokumentumban található regisztrált nevek, védjegyek stb., nem tekinthetők jog által nem védetteknek, még akkor sem, ha ez nem kerül kifejezetten nyilváníásra.

#### **Korlátozott licenz megállapodás a QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit-re**

A jelen termék használatával e termék vásárlója vagy felhasználója beleegyezik a következő megállapodásba:

1. A terméket kizárólag a mellékelt használati utasításnak megfelelően lehet használni, kizárólag a kit-ben található összetevőkkel. A QIAGEN nem ad jogot arra, szellemi tulajdonjoga alapján, hogy a kit-ben lévő összetevőket használják, vagy máshova beépítsék, és a kit-ben meg nem található összetevőkkel kombinálják, kivéve a termékhez mellékelt protokollban, vagy a mostani kézikönyvben, vagy a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) oldalon található protokollokban leírtaknak megfelelően. A további protokollok némelyikét QIAGEN felhasználók bocsátják más QIAGEN felhasználók rendelkezésére. Ezek a protokollok nem mentek át a QIAGEN szigorú tesztelésén és nem optimalizálták azokat. A QIAGEN nem ad garanciát arra és nem vállalja a felelősséget azért, hogy ezek a protokollok nem sértik harmadik fél jogait.
2. A kifejezetten megjelenített licensen kívül, a QIAGEN nem vállal felelősséget arra, hogy a kit és/vagy annak használata nem sérti harmadik fél jogát.
3. Ez a kit és összetevői egyszeri használatra engedélyezettek, nem használhatók fel újra, nem újíthatók fel vagy nem adhatók el újra.
4. A QIAGEN visszautasít minden más kifejezett vagy arra utaló licenst, amelyet kifejezetten nem nyilvánítt ki.
5. A kit megvásárlója vagy felhasználója egyetért azzal, hogy nem egyezik bele és nem ad engedélyt arra senki másnak, hogy olyan lépéseket tegyenek, melyek a fent leírtakhoz vagy a fent megiltott cselekményhez vezethetnek. A QIAGEN kényszerítheti a Korlátozott licenz megállapodás betartását bármilyen bíróságon és minden nyomozati és jogi költséget, beleértve az ügyvédi költséget is jogában áll megtéríttetni, ha a fenti Korlátozott licenz megállapodás betartásával kapcsolatban lépéseket kell tennie, vagy bármilyen a kit és/vagy összetevőivel kapcsolatos szellemi tulajdonjoga sérülne.

A legfrissebb licenz információkat keresse a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) honlapon.

© 2012 QIAGEN, minden jog fenntartva.

---

**www.qiagen.com**

**Australia** ■ techservice-au@qiagen.com

**Austria** ■ techservice-at@qiagen.com

**Belgium** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Brazil** ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

**China** ■ techservice-cn@qiagen.com

**Denmark** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Finland** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**France** ■ techservice-fr@qiagen.com

**Germany** ■ techservice-de@qiagen.com

**Hong Kong** ■ techservice-hk@qiagen.com

**India** ■ techservice-india@qiagen.com

**Ireland** ■ techservice-uk@qiagen.com

**Italy** ■ techservice-it@qiagen.com

**Japan** ■ techservice-jp@qiagen.com

**Korea (South)** ■ techservice-kr@qiagen.com

**Luxembourg** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Mexico** ■ techservice-mx@qiagen.com

**The Netherlands** ■ techservice-bnl@qiagen.com

**Norway** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Singapore** ■ techservice-sg@qiagen.com

**Sweden** ■ techservice-nordic@qiagen.com

**Switzerland** ■ techservice-ch@qiagen.com

**UK** ■ techservice-uk@qiagen.com

