

# QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit Kullanım Talimatları (El Kitabı)



50

Versiyon 3

**IVD**

İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir  
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ile kullanım içindir



**REF**

61104



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALMANYA

R1

**MAT**

1127543TR

# İçerik

Kullanım Amacı .....	4
Planlanmış Kullanıcılar .....	4
Açıklama ve İlke .....	5
Kan hücrelerinin parçalanması .....	5
Genomik DNA'nın QIAamp Mini döndürme kolonu membranına bağlanması .....	5
Kalan kontaminanların giderilmesi .....	6
Saf genomik DNA'nın elüsyonu .....	6
Genomik DNA'nın verimi ve kalitesi .....	7
QIAcube Connect MDx'te otomatik saflaştırma .....	7
Özet ve açıklama .....	10
Sağlanan Materyaller .....	11
Kit içeriği .....	11
Kit bileşenleri .....	12
Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller .....	13
Ek reaktifler .....	13
Sarf malzemeleri .....	13
Ekipman .....	13
Yalnızca vakumlama prosedürü için .....	13
Yalnızca otomatik prosedür için .....	14
Uyarılar ve Önlemler .....	15
Güvenlik bilgileri .....	15
Önlemler .....	16

Bertaraf .....	17
Reaktif Saklama ve Kullanma .....	18
Kullanımda stabilite .....	18
Numune Alma, Saklama ve Kullanma .....	19
Önemli Notlar .....	21
Protokole başlamadan önce önemli noktalar.....	21
Reaktifleri ve tamponları hazırlama.....	22
QIAamp Mini döndürme kolonlarının kullanılması .....	23
QIAvac 24 Plus vakum sisteminin kurulumu .....	24
Prosedür .....	26
Protokol: Genomik DNA'nın kan örneklerinden, mikrosantrifüj/QIAcube Connect MDx üzerinde otomatik saflaştırma kullanılarak izolasyonu ve saflaştırılması .....	26
Protokol: Genomik DNA'nın kan örneklerinden, vakum sistemi kullanılarak izolasyonu ve saflaştırılması .....	30
Kalite Kontrol .....	35
Sınırlamalar .....	36
Performans Özellikleri .....	37
Sorun Giderme Kılavuzu .....	38
Semboller .....	41
Sipariş Bilgileri.....	44
Belge Revizyon Geçmişi.....	46

## Kullanım Amacı

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit, genomik DNA'nın biyolojik numunelerden izolasyonu ve saflaştırılması amacıyla silika-membran teknolojisini (QIAamp teknolojisi) kullanan bir sistemdir.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit, in vitro tanı amaçlı kullanıma yöneliktir.

## Planlanmış Kullanıcılar

Ürünün, moleküler biyoloji teknikleri konusunda eğitim almış teknisyenler ve doktorlar gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılması amaçlanmıştır.

# Açıklama ve İlke

Her QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürü 4 adımdan oluşur:

- Kan örneğinde hücrelerin parçalanması
- Hücre lizatında bulunan genomik DNA'nın, QIAamp Mini döndürme kolonu membranına bağlanması
- Membranın yıkanması
- Genomik DNA'nın membrandan ayrıştırılması

Bu el kitabında, 2 alternatif QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürüne yönelik protokoller yer almaktadır: santrifüj gerektiren veya QIAcube® Connect MDx üzerinde otomatik hale getirilebilen döndürme prosedürü (Şekil 1) ve santrifüj ile vakum sistemi gerektiren vakumlama prosedürü (bkz. akış şeması, sayfa 9).

## Kan hücrelerinin parçalanması

Örnekler, yüksek sıcaklıklarda, denatüran koşullar altında parçalanır. Lizis, QIAGEN® Protease (QP) ve Lizis Tamponu (AL) varlığında gerçekleştirilir.

## Genomik DNA'nın QIAamp Mini döndürme kolonu membranına bağlanması

Genomik DNA'nın QIAamp Mini döndürme kolonu membranına bağlanmasını optimize etmek için lizatlara öncelikle etanol eklenir. Ardından, her bir lizat QIAamp Mini döndürme kolonuna uygulanır ve lizat, vakum basıncı veya santrifüj kuvveti tarafından çekilirken genomik DNA, silika membrana adsorbe edilir.

## Kalan kontaminanların giderilmesi

Genomik DNA QIAamp Mini döndürme kolonu membranına bağlı haldeyken kontaminanlar, öncelikle Yıkama Tamponu 1 (AW1) ve ardından Yıkama Tamponu 2 (AW2) kullanılarak etkili bir şekilde yıkanarak giderilir.

## Saf genomik DNA'nın elüsyonu

Genomik DNA, QIAamp Mini döndürme kolonu membranından, 50–200 µl Elüsyon Tamponu (AE) kullanılarak elüe edilir. Elüsyona tabi tutulan DNA, çeşitli in vitro tanı amaçlı aşağı akışlı tahliller dahil olmak üzere, farklı aşağı akışlı tahlillerde kullanıma hazırdır. Elüsyon Tamponu (AE), kolona uygulanmadan önce oda sıcaklığına (15–25°C) dengelenmelidir.

Santrifüjleme sonrasında döndürme kolonu membranı tarafından tutulan kalan elüsyon tamponu nedeniyle, kazanılan elüat hacmi, kolona uygulanan Elüsyon Tamponu (AE) hacminden düşük olabilir. Kazanılan elüatın hacmi, örneğin niteliğine bağlıdır. Elüsyona tabi tutulan DNA Elüsyon Tüplerinde (ET) toplanır ve 4 haftaya kadar 2–8°C'de saklanabilir. Uzun süreli saklama için –20°C'de saklanmasını öneririz.

**Not:** Elüat stabilitesi büyük ölçüde çeşitli faktörlere bağlıdır ve spesifik aşağı akışlı uygulama ile ilgilidir. Stabilitate, örnek niteliğinde aşağı akışlı uygulamalar ile birlikte QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit için değerlendirilmiştir. Laboratuvarında kullanılan spesifik aşağı akışlı uygulamanın kullanım talimatlarına başvurmak ve/veya uygun saklama koşullarını belirlemek için iş akışının tamamını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

## Genomik DNA'nın verimi ve kalitesi

DNA verimi, örneğe ve başlangıç materyalinin kalitesine bağlıdır. Daha düşük hacimlerde elüsyon, elüat içindeki nihai DNA konsantrasyonunu artırır ancak genel DNA verimini biraz düşürür. İstenen aşağı akışlı uygulama için uygun bir elüsyon hacmi kullanılmasını öneririz.

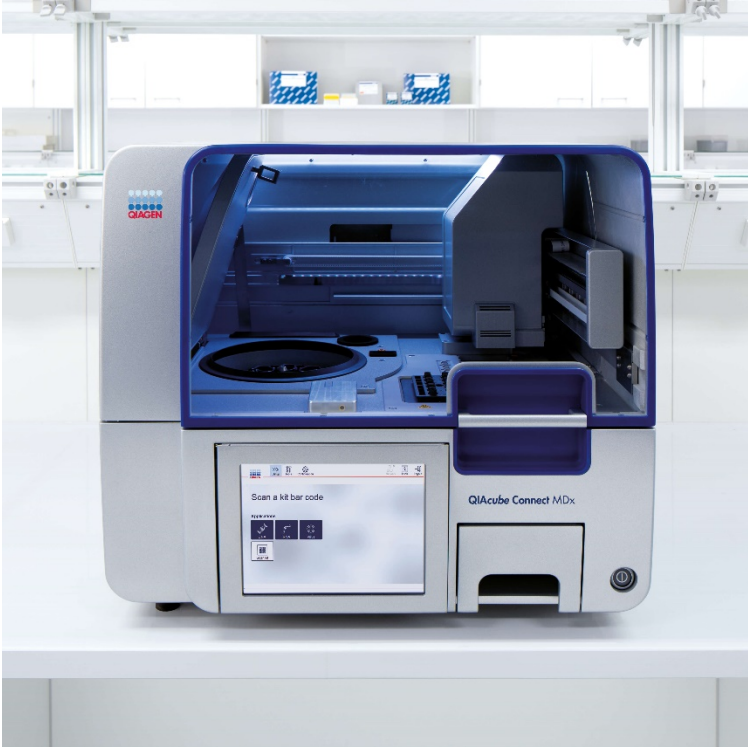
İzole edilen genomik DNA'nın verimi ve kalitesi, PCR gibi moleküler tanı amaçlı aşağı akışlı saptama prosedürlerine uygundur. Tanı amaçlı tahliller, üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmelidir.

## QIAcube Connect MDx'te otomatik saflaştırma

QIAcube Connect MDx, nükleik asitler için otomatik izolasyon ve saflaştırma gerçekleştirir. Tek bir çalışmada en fazla 12 örnek işleyebilir.

QIAcube Connect MDx kullanılarak örnek hazırlama işleminde, manuel prosedür ile aynı adımlar (parçalama, bağlama, yıkama ve elüsyon) izlenir. Böylece, yüksek kaliteli DNA saflaştırması için QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanmaya devam edebilirsiniz.

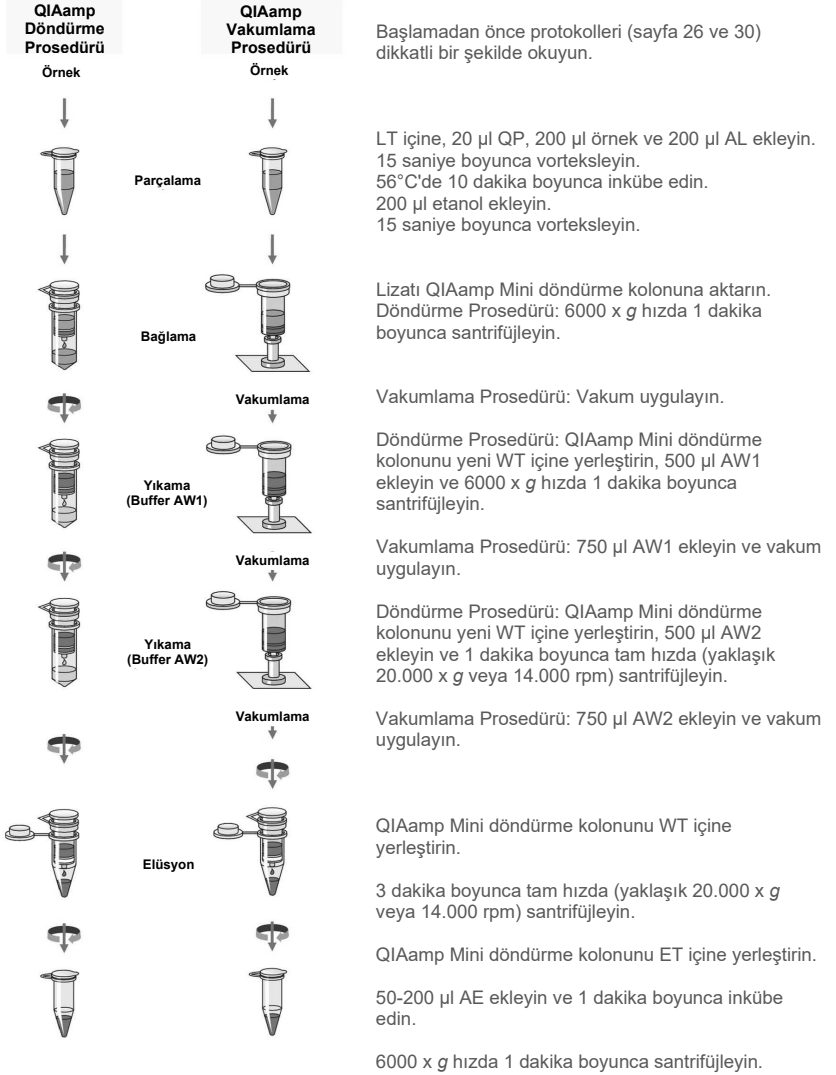
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit'i QIAcube Connect MDx üzerinde otomatik hale getirmeniz durumunda cihaz; ölü hacimler, buharlaşma ve otomatik pipetleme kaynaklı ilave reaktif tüketimi nedeniyle 50'nin altında örnek işleyebilir. QIAGEN, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit'in manuel kullanımı ile yalnızca 50 örnek hazırlanabileceğini garanti eder.



**Şekil 1. QIAcube Connect MDx.**



## QIAamp DSP DNA Blood Mini Döndürme ve Vakumlama Prosedürleri



## Özet ve açıklama

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit, genomik DNA'nın 200 µl tam kandan izole edilmesi ve saflaştırılmasına yönelik hızlı ve kolay bir yöntem sağlamak adına iyi yapılandırılmış bir teknoloji kullanır.

Birden fazla kan örneğinin eş zamanlı işlenmesi için tasarlanan QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürleri ile saflaştırılmış ve kullanıma hazır DNA elde edilir. Prosedürler, taze veya dondurulmuş tam kan ile kullanıma ve sitrat veya EDTA ile işlem görmüş kan ile kullanıma uygundur.

Lökositlerin önceden ayrılmış olması gerekmez. Prosedürler fenol/kloroform ekstraksiyonu veya alkol presipitasyonu gerektirmez; asgari kullanıcı etkileşimi gerektirir ve böylece, potansiyel olarak enfeksiyöz örnekler üzerinde güvenle çalışılmasını sağlar. Prosedürler, örnekten örneğe çapraz kontaminasyonu minimum düzeyde tutmak üzere tasarlanmıştır. Saflaştırılmış DNA, PCR veya diğer uygulamalarda kullanıma hazır olup alternatif olarak, uzun süreli saklama için -20°C'de saklanabilir.

Kolay QIAamp DSP döndürme ve vakumlama prosedürleri, birden fazla örneğin eş zamanlı işlenmesi için uygundur. QIAamp döndürme prosedürlerinden bazıları, yüksek standardizasyon ve kullanım kolaylığı sağlamak adına QIAcube Connect MDx üzerinde tamamen otomatik hale getirilebilir (sayfa 7).

Vakumlama prosedüründe protokol için bir vakum manifoldu (örn. QIAvac Connecting System ile QIAvac 24 Plus) ve yaklaşık 800–900 mbar vakum üretme kapasitesine sahip bir vakum pompası (örn. QIAGEN Vacuum Pump) gereklidir. Vakum basıncının kolayca izlenmesi ve vakumun uygun bir şekilde tahliye edilmesi için Vacuum Regulator kullanılmalıdır (QIAvac Connecting System'in bir parçası olarak).

# Sağlanan Materyaller

## Kit içeriği




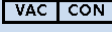
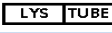
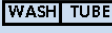
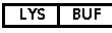


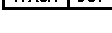
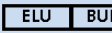


### QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Katalog no.

61104

Terkip sayısı

50

	Kimlik	Semboller	Adet
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (WT) (2 ml) (Yıkama Tüpleri (WT) (2 ml) ile QIAamp Mini Döndürme Kolonları)		50
ET	Elution Tubes (Elüsyon Tüpleri) (1,5 ml)	 	50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (Lizis Tüpleri (1,5 ml))		50
WT	Wash Tubes (Yıkama Tüpleri) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer* (Lizis Tamponu)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1† (Yıkama Tamponu 1) (konsantre)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2† (Yıkama Tamponu 2) (konsantre)		13 ml
AE	Elution Buffer (Elüsyon Tamponu)‡		25 ml
PS	Protease Solvent (Proteaz Solvent)‡		2 ml
QP	QIAGEN Protease (QIAGEN Proteaz)§		1 şişe
-	Kullanım Talimatları (El Kitabı)		1

\* QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit'i QIAcube Connect MDx cihazında otomatik hale getirmeniz durumunda cihaz; ölü hacimler, buharlaşma ve otomatik pipetleme kaynaklı ilave reaktif tüketimi nedeniyle 50'nin altında örnek işleyebilir. QIAGEN, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit'in manuel kullanımı ile yalnızca 50 örnek hazırlanabileceğini garanti eder.

† Guanidin hidroklorür içerir. Çamaşır suyu içeren dezenfektanlarla uyumlu değildir. Daha fazla bilgi için bkz. Güvenlik bilgileri, sayfa 15.

‡ Koruyucu madde olarak sodyum azid içerir.

§ Resüpsansiyon hacmi 1,2 ml. Bkz. "Reaktifleri ve tamponları hazırlama", sayfa 22.

## Kit bileşenleri

Aktif bileşenler dahil olmak üzere kitin ana bileşenleri aşağıda açıklanmaktadır.

<b>Reaktif</b>	<b>Aktif bileşenler</b>	<b>Konsantrasyon (a/a) [%]</b>
QIAGEN Protease	Subtilizin	≥0 ila ≤100
AL	Guanidin hidroklorür Maleik asit	≥30 ila <50 ≥0,1 ila <1
AW1	Guanidin hidroklorür	≥50 ila <70

# Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller

## Ek reaktifler

- Etanol (%96–100)\*

## Sarf malzemeleri

- Pipetler<sup>†</sup> ve pipet uçları (çapraz kontaminasyonu önlemek için aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanımını önemle tavsiye ederiz)
- Tek kullanımlık eldiven

## Ekipman

- Örneklerin 56°C'de lizisi için ısıtma bloğu<sup>†</sup> (1,5 ml'lik mikro test tüpleri için)
- Mikrosantrifüj<sup>†</sup>
- Dereceli silindir (50 ml)
- Vorteksleyici

## Yalnızca vakumlama prosedürü için

- QIAvac 24 Plus vakum sistemi (kat. no. 19413) veya muadili<sup>†</sup>
- VacValves (kat. no. 19408)
- QIAvac Connecting System (kat. no. 19419)
- Vacuum Pump (kat. no. 84020)
- Vacuum Regulator (kat. no. 19530)

\* Metanol veya metiletilketon gibi başka maddeler içeren denatüre alkol kullanmayın.

<sup>†</sup> Örneklerin QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürlerinde uygun şekilde işlenmesini sağlamak için cihazların (örn. pipetler ve ısıtma blokları), üreticinin önerileri doğrultusunda kontrol ve kalibre edilmesini önemle tavsiye ederiz.

## Yalnızca otomatik prosedür için

- QIAcube Connect MDx cihazı (kat. no. 9003070)\*
- Rotor Adapters (kat. no. 990394)
- Rotor Adapter Holder (kat. no. 990392)
- Sample Tubes CB (kat. no. 990382; örnek giriş tüpü)
- Shaker Rack Plugs (kat. no. 9017854)
- Reagent Bottles, 30 ml (kat. no. 990393)
- Filter Tips, 1000 µl (kat. no. 990352)
- Filter Tips, 200 µl (kat. no. 990332)
- SafeSeal Tube, 1,5 ml (Sarstedt®, kat. no. 72.706)

\* Örneklerin QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürlerinde uygun şekilde işlenmesini sağlamak için cihazların (örn. pipetler ve ısıtma blokları), üreticinin önerileri doğrultusunda kontrol ve kalibre edilmesini önemle tavsiye ederiz.

# Uyarılar ve Önlemler


Cihazla ilgili olarak meydana gelen ciddi olayları üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve kullanıcının ve/veya hastanın bulunduğu ülkenin düzenleyici makamına rapor etmek için yerel düzenlemelerinize başvurmanız gerekebileceğini lütfen dikkate alın.

İn vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

Kiti kullanmadan önce tüm talimatları dikkatle okuyun.

## Güvenlik bilgileri

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun. Bunlar, her bir QIAGEN kiti ve kit bileşenlerine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) adresinde çevrimiçi olarak uygun ve kompakt PDF biçiminde mevcuttur.

<p><b>DİKKAT</b></p> 	<p>Örnek hazırlama atığına doğrudan çamaşır suyu veya asidik solüsyonlar EKLEMEYİN.</p>
---	---

- Lizis Tamponu (AL) ve Yıkama Tamponu 1 (AW1), çamaşır suyu ile birleştiğinde yüksek derecede reaktif bileşikler oluşturabilen guanidin hidroklorür içermektedir. Eğer bu tamponları içeren sıvı dökülürse uygun laboratuvar deterjanı ve suyla temizleyin. Dökülen sıvı enfeksiyöz olabilecek ajanlar içeriyorsa etkilenmiş bölgeyi önce laboratuvar deterjanı ve suyla ve sonrasında %1 (h/h) sodyum hipoklorit ile temizleyin. Tampon şişeleri hasarlı veya sızdırıyorsa kendinizin veya başkalarının yaralanmasını önlemek adına şişeleri atarken eldiven ve koruyucu gözlük kullanın.

- QIAGEN, QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürlerinde oluşan sıvı atığı kalıntı enfeksiyöz materyaller bakımından test etmemiştir. Sıvı atığın enfeksiyöz materyaller ile kontamine olması muhtemel olmasa da, bu olasılık tamamen göz ardı edilemez. Bu nedenle, sıvı atığın enfeksiyöz olduğu kabul edilmeli ve sıvı atık, yerel güvenlik düzenlemeleri doğrultusunda kullanılmalı ve atılmalıdır.
- Numuneler ve örnekler potansiyel olarak enfeksiyözdür. Örneği ve tahlil atıklarını, yerel güvenlik prosedürlerinize uygun olarak imha edin.

## Acil durum bilgileri

CHEMTREC

ABD ve Kanada 1-800-424-9300

ABD ve Kanada dışı +1 703-527-3887

## Önlemler

Aşağıdaki risk ve güvenlik ifadeleri QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit bileşenleri için geçerlidir.

### Buffer AL



İçerik: guanidin hidroklorür ve maleik asit. Uyarı! Yutulursa veya solunursa zararlı olabilir. Cilt tahrişine neden olur. Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir. Ciddi göz tahrişine neden olur. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın. Kendinizi iyi hissetmezseniz bir ZEHİR MERKEZİ veya doktoru arayın. Ciltte tahriş veya kaşıntı olursa: Tıbbi tavsiye/yardım alın. Kontamine giysileri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. İçeriği/kabı onaylı bir atık imha tesisine atın.

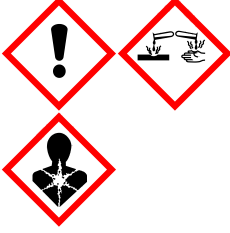
### Buffer AW1



İçerik: guanidin hidroklorür. Uyarı! Yutulursa veya solunursa zararlıdır. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın. Kontamine giysileri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. İçeriği/kabı onaylı bir atık imha tesisine atın.



## QIAGEN Protease



İçerik: subtilizin. Tehlike! Yutulursa zararlıdır. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz hasarına neden olur. Solunursa alerji veya astım belirtileri ya da solunum zorluklarına neden olabilir. Solunum yollarında tahrişe neden olabilir. Tozu/buğuyu/gazı/dumanı/buharı/spreyi solumaktan kaçının. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın. Solunum koruması kullanın. GÖZE KAÇMIŞSA: Birkaç dakika suyla iyice durulayın. Eğer mevcut ve kolaysa kontak lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin. Maruz kalınması veya endişelenilmesi DURUMUNDA: Hemen bir ZEHİR MERKEZİNİ veya doktoru arayın. Kişiyi temiz havaya çıkarın ve solunum için rahat bir pozisyonda tutun.

## Bertaraf

Atık içinde örnekler ve reaktifler bulunmaktadır. Bu atık, toksik veya enfeksiyöz materyaller içerebilir ve uygun şekilde imha edilmelidir. Uygun bertaraf prosedürleri için yerel güvenlik düzenlemelerinize başvurun.

Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun. Bunlar çevrimiçi olarak PDF halinde [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) adresinde yer almaktadır ve burada her QIAGEN kiti ve kit bileşeni için SDS'yi bulabilir, okuyabilir ve yazdırabilirsiniz.

# Reaktif Saklama ve Kullanma

Tüm bileşenlerin kutusunda ve etiketlerinin üstünde yazılı olan son kullanma tarihlerine ve saklama koşullarına dikkat edilmelidir. Süresi dolmuş veya hatalı saklanmış bileşenleri kullanmayın.

QIAamp Mini döndürme kolonları, teslim edildikten sonra 2–8°C'de saklanmalıdır ve kit kutusunda yer alan son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

**Not:** Farklı kitlerden kit bileşenlerinin karışmadığından emin olmak için lütfen QIAamp Mini döndürme kolonlarını ilgili kit lotu numarasıyla etiketleyin.

Tüm tamponlar, kit kutusunda yer alan son kullanma tarihine kadar oda sıcaklığında (15–25°C) saklanabilir.

Liyofilize QIAGEN Protease (QP), performans etkilenmeden kitin son kullanma tarihine kadar oda sıcaklığında (15-25°C) saklanabilir.

## Kullanımda stabilite

Sulandırılan QIAGEN Protease (QP), en geç kitin son kullanma tarihine kadar olmak üzere, 2–8°C'de saklandığında 1 yıla kadar stabildir. QIAGEN Protease (QP) stok solüsyonunu oda sıcaklığında uzun süre saklamaktan kaçınılmalıdır.

Sulandırılan Yıkama Tamponu 1 (AW1) ve sulandırılan Yıkama Tamponu 2 (AW2), en geç kitin son kullanma tarihine kadar olmak üzere, oda sıcaklığında (15–25°C) saklandığında 1 yıla kadar stabildir.

Otomatik prosedür için tamponların hazırlanması amacıyla, *QIAcube Connect MDx Kullanım Kılavuzu* belgesinde ([www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresindeki ürün sayfasında kaynak sekmesi altında bulunabilir) yer alan talimatları izleyin.

# Numune Alma, Saklama ve Kullanma

**Not:** Örnek stabilitesi büyük ölçüde çeşitli faktörlere bağlıdır ve spesifik aşağı akışlı uygulama ile ilgilidir. Stabilite, örnek niteliğinde aşağı akışlı uygulamalar ile değerlendirilmiştir. Laboratuvarında kullanılan spesifik aşağı akışlı uygulamanın kullanım talimatlarına başvurmak ve/veya uygun saklama koşullarını belirlemek için iş akışının tamamını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

Genel alma, taşıma ve saklama önerileri için onaylanmış CLSI yönergesi MM13-A "Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods" (Moleküler Yöntemler İçin Numunelerin Alınması, Taşınması, Hazırlanması ve Saklanması) belgesine bakın. Ayrıca örnek hazırlama, saklama, taşıma ve genel kullanım sırasında, seçilen örnek toplama cihazına ilişkin üretici talimatları da izlenmelidir. Kan toplama tüpü üreticisinin talimatlarından bağımsız olarak, venöz tam kandan genomik DNA ekstraksiyonunda ISO 20186-2:2019 (E) dikkate alınmalıdır.

**Not:** ISO 20186-2:2019(E) uyarınca, kan toplama tüplerinden heparin, izole edilmiş nükleik asitlerin saflığını etkileyebilir ve elüatlara olası taşınma, bazı aşağı akışlı uygulamalarda inhibisyonlara neden olabilir. Bu nedenle, antikoagülan olarak EDTA veya sitrat ile işlenmiş kan örneklerinin kullanılmasını öneririz.

Birincil tüplerde taze kan örnekleri kullanıyorsanız örnek transferinden önce kan örneklerini iyice karıştırın (örneğin tüpleri birkaç defa baş aşağı çevirerek). Donmuş örnekler (en fazla 3 dondurma/çözdürme döngüsüyle) 37°C'lik bir su banyosunda iyice karışmalarını sağlamak için hafifçe çalkalanarak çabucak çözdürülmeli ve ardından prosedür başlatılmadan önce oda sıcaklığına (15–25°C) dengelenmelidir. 3 defadan fazla dondurulmuş ve çözdürülmüş kan örneklerini kullanmayın. Güvenilir örnek transferi sağlamak için örnek tüplerinde köpük oluşmasından kaçının. Örneklerde kan pıhtıları bulunmasından kaçınmaya çalışın ve örneği pıhtılar olmadan aktarın. Dondurulmuş örneklerin çözdürülmesi sırasında oluşan kriyopresipitatlar, QIAamp Mini döndürme kolonu membranını tıkar veya QIAcube Connect MDx üzerinde gerçekleştirilen otomatik prosedüre zarar verebilir. Görünür kriyopresipitatlar varsa bunları aspire etmekten kaçının.

Safılaştırılmış DNA'nın verimi ve kalitesi kanın saklanma koşullarına bağlıdır. Daha taze olan kan örnekleri daha iyi sonuçlar verebilir. 10 güne kadar olan kısa süreli saklama için 2–8°C'de saklama öneririz. Bununla beraber, "southern blotting" gibi maksimum parçacık boyutu gerektiren uygulamalar için yalnızca 3 güne kadar 2–8°C'de saklama yapılmasını öneririz çünkü bu süreden sonra düşük seviyelerde DNA bozunması gerçekleşecektir. Uzun süreli saklama (10 günden fazla) için kanı standart bir antikoagölan (yüksek moleküler ağırlıklı DNA gerekiyorsa tercihen EDTA) içeren tüplerde toplayın ve –20 veya –80°C'de saklayın.

# Önemli Notlar

## Protokole başlamadan önce önemli noktalar

- Kiti aldıktan sonra kit bileşenleri hasar yönünden kontrol edin. Kabarcıklı paketler veya tampon şişeleri hasar görmüşse QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüz ile iletişime geçin. Sıvı dökülmesi durumunda "Güvenlik bilgileri" bölümüne (sayfa 15) başvurun. Hasarlı kit bileşenlerinin kullanımı düşük kit performansına yol açabileceğinden bunları kullanmayın.
- Sıvı transferleri arasında daima pipet uçlarını değiştirin. Çapraz kontaminasyonu en aza indirmek adına aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanılmasını öneririz.
- Her zaman tüm prosedür boyunca tek kullanımlık eldiven kullanın ve eldivenin örnek materyali ile kontamine olmadığını düzenli olarak teyit edin. Kontamine olması halinde eldiveni atın.
- Çapraz kontaminasyonu en aza indirmek için tek seferde yalnız bir tüp açın.
- Tüm puls vorteksleme adımlarından sonra, kapakların iç kısmındaki damlaları gidermek için mikrosantrifüj tüplerini kısa bir süre santrifüjleyin. Kullanıcı, tüm prosedür boyunca örneklerin izlenebilirliğinin korunduğundan emin olmalıdır.
- Tüm santrifüjleme adımları oda sıcaklığında (15–25°C) gerçekleştirilir.
- Başka kitlere ait kit bileşenlerini, lot numaraları birbirine eşit değilse kullanmakta olduğunuz kit ile birlikte kullanmayın.
- Kit reaktiflerinden kaynaklı mikrobiyal kontaminasyondan kaçının.
- Potansiyel olarak enfeksiyöz materyal kaynaklı enfeksiyondan kaçınmak için örnekler parçalanana kadar laminar hava akışına sahip koşullarda çalışmanızı öneririz.
- Bu kit yalnızca, in vitro tanı amaçlı laboratuvar uygulaması üzerine eğitim almış personel tarafından kullanılmalıdır.

## Reaktifleri ve tamponları hazırlama

- QIAGEN Protease hazırlama

Liyofilize QIAGEN Protease (QP) şişesine 1,2 ml Protease Solvent (PS) ekleyip dikkatlice karıştırın. Köpürmeyi engellemek için şişeyi birkaç kez baş aşağı çevirerek karıştırın. QIAGEN Protease'ın (QP) tamamen çözüldüğünden emin olun.

**Önemli:** QIAGEN Protease'ı (QP) doğrudan Lizis Tamponu'na (AL) eklemeyin.

- Yıkama Tamponu 1'i hazırlama

Bir dereceli silindir kullanarak 19 ml konsantre Yıkama Tamponu 1 (AW1) içeren şişeye 25 ml etanol (%96-100) ekleyin. Çözülmüş Yıkama Tamponu 1'i (AW1) oda sıcaklığında (15-25 °C) saklayın.

**Önemli:** Prosedüre başlamadan önce mutlaka sulandırılmış Yıkama Tamponu 1'i (AW1) şişeyi birkaç kez baş aşağı çevirerek karıştırın.

- Yıkama Tamponu 2'yi hazırlama

Bir dereceli silindir kullanarak 13 ml konsantre Yıkama Tamponu 2 (AW2) içeren şişeye 30 ml etanol (%96-100) ekleyin. Çözülmüş Yıkama Tamponu 2'yi (AW2) oda sıcaklığında (15-25 °C) saklayın.

**Önemli:** Prosedüre başlamadan önce mutlaka sulandırılmış Yıkama Tamponu 2'yi (AW2) şişeyi birkaç kez baş aşağı çevirerek karıştırın.

- Elüsyon Tamponunu hazırlama

Kit ile bir şişe Elüsyon Tamponu (AE) tedarik edilmiştir. Elüsyon Tamponunun (AE) kontaminasyonunu engellemek için Elüsyon Tamponunu (AE) şişeden pipetlerken aerosol bariyerli pipet uçları kullanılmasını ve ardından şişenin kapağının derhal kapatılmasını şiddetle tavsiye ederiz.

**Önemli:** Elüsyon Tamponu (AE), 260 nm'de absorbans gösteren koruyucu sodyum azid içerir. Bu nedenle, 260 nm'de absorbans ölçümüyle elüat içindeki DNA'nın miktarını belirlerken, 260 nm'de veya 280 nm'de absorbans ölçümleriyle elüat içindeki DNA'nın saflığını belirlerken veya 220 nm - 350 nm aralığında absorbans taraması yaparken boş örneğin, elüat ile aynı konsantrasyonda sodyum azid içerdiğinden emin olun. Örneğin, 50 µl elüatı 100 µl suyla seyrelterek absorbans ölçümleri için elüat hazırlıyorsanız boş örneği, 50 µl Elüsyon Tamponunu (AE) 100 µl suyla seyrelterek hazırlamalısınız. Dilüsyon işlemleri için taze ve distile su kullanın.

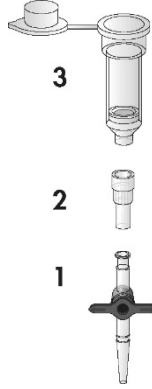
## QIAamp Mini döndürme kolonlarının kullanılması

Nükleik asit amplifikasyonu teknolojilerinin duyarlılığı nedeniyle, QIAamp Mini döndürme kolonları kullanılırken örnek hazırlıkları arasında çapraz kontaminasyondan kaçınmak için şu önlemler gereklidir:

- Örneği veya çözeltiyi QIAamp Mini döndürme kolonunu dikkatli bir şekilde uygulayın. Örneği, kolon kenarını ıslatmadan QIAamp Mini döndürme kolonuna pipetleyin.
- QIAamp Mini döndürme kolonu membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.
- Her defasında yalnızca bir adet QIAamp Mini döndürme kolonunu açın ve aerosol oluşturmaktan kaçının.

## QIAvac 24 Plus vakum sisteminin kurulumu

QIAamp Mini döndürme kolonunun, VacConnector'ın (VC) ve VacValve'in kurulumunu doğru yaptığınızdan emin olun (bkz. Şekil 2).



**Şekil 2. Örneklerin vakum işlemleri için QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit bileşenlerinin bir araya getirilmesi.**  
(1) VacValve, (2) VacConnector (VC) ve (3) QIAamp Mini döndürme kolonu.

Vakumlama prosedürünü QIAvac 24 Plus vakum sistemiyle gerçekleştirmeniz durumunda örneklerin birbirine karışmasını önlemek adına Lizis Tüplerinin (LT), Elüsyon Tüplerinin (ET) ve QIAamp Mini döndürme kolonlarının, Şekil 3'te yer alan (sonraki sayfaya bakın) şemaya göre etiketlenmesini öneririz. Bu şeklin fotokopisi alınabilir ve örnek adlarıyla etiketlenebilir. Farklı vakum sistemleri kullanılması veya döndürme prosedürünün kullanılması durumunda benzer bir şema kullanılmasını öneririz.



Tarih:

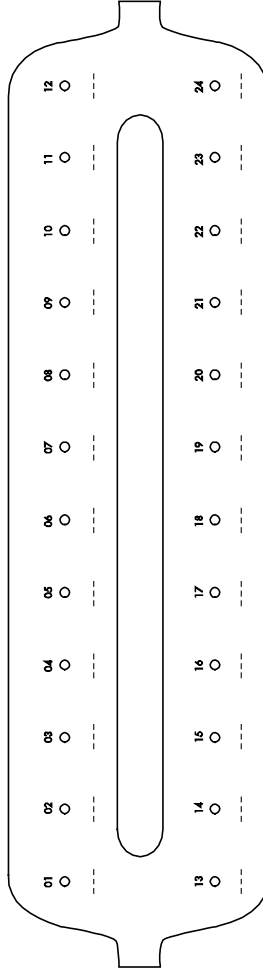
\_\_\_\_\_

Operatör:

\_\_\_\_\_

Çalışma Kimliği:

\_\_\_\_\_



**Şekil 3. Lizis Tüpleri (LT), Elüsyon Tüpleri (ET) ve QIAamp Mini döndürme kolonlarının QIAvac 24 Plus vakum sisteminde kullanımına yönelik etiketleme şeması.**

# Prosedür

## Protokol: Genomik DNA'nın kan örneklerinden, mikrosantrifüj/QIAcube Connect MDx üzerinde otomatik saflaştırma kullanılarak izolasyonu ve saflaştırılması

Mikrosantrifüj kullanılarak veya QIAcube Connect MDx üzerinde otomatik olarak, EDTA veya sitrat ile işlenmiş 200 µl tam kan örneklerinden genomik DNA'nın izolasyonu ve saflaştırılması için.

### Başlamadan önce önemli noktalar

- Aşağıdaki prosedür, tek bir kan örneğinin işlenmesine yönelik talimatlar sunmaktadır. Bununla birlikte, aynı anda birçok örnek işlenebilir. Örnek sayısı, kullanılan mikrosantrifüjün kapasitesine bağlıdır.
- QIAcube Connect MDx cihazında 2–10 veya 12 örneğin otomatik işlenmesi gerçekleştirilebilir.
- Otomasyon için, kullanıcı arayüzünde (QIAcube Connect MDx) yer alan talimatları izleyin ve *QIAcube Connect MDx Kullanım Kılavuzu* belgesine ([www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresindeki ürün sayfasında kaynak sekmesi altında bulunabilir) başvurun.

### Başlamadan önce yapılacaklar

- Kan örneklerini oda sıcaklığına dengeleyin ve iyi karışmış olduklarından emin olun.
- Tüm reaktiflerin ve QIAamp Mini döndürme kolonlarının (kapalı blister ambalaj içinde) oda sıcaklığına dengelendiğinden emin olun.
- Adım 4'te kullanmak üzere bir ısıtma bloğunu 56°C'ye ayarlayın (cihaz dışı manuel lizis ile manuel prosedür ve otomatik prosedür için gereklidir).

- Yıkama Tamponu 1 (AW1), Yıkama Tamponu 2 (AW2) ve QIAGEN Protease'ın (QP), sayfa 22'de yer alan "Reaktifleri ve tamponları hazırlama" talimatları doğrultusunda hazırlanmış olduğundan emin olun.
- Lizis Tamponu (AL) içinde çökelti oluştuysa, 56°C'de inkübe ederek çözündürün.
- QIAGEN'deki kalite kontrol prosedürlerinde her bir kit lotu için işlevsel kit piyasaya sürüm testleri kullanılır. Bu nedenle, farklı kit lotlarından reaktifleri karıştırmayın ve farklı reaktif lotlarından ayrı reaktifleri bir araya getirmeyin.

## Prosedür

- Mikrosantrifüj ile manuel prosedür için 1-15 arası adımları izleyin.
  - Bu prosedür 3 farklı versiyonda otomatik hale getirilebilir:
    - Elüsyon hacmi: 100 µl tamamen otomatik (adım 1 ile başlayan otomasyon)
    - Elüsyon hacmi: 200 µl tamamen otomatik (adım 1 ile başlayan otomasyon)
    - Manuel lizis: cihaz dışı manuel lizis ve 10 µl'lik artışlarla 100–200 µl elüsyon hacimleri ile kısmen otomatik (adım 5 sonrasında başlayan otomasyon)
1. 20 µl QIAGEN Protease'ı (QP) bir Lizis Tüpü (LT) içine pipetleyin.
    - ① Sulandırılmış proteazı kullanmadan önce son kullanma tarihini kontrol edin.
  2. Lizis Tüpüne (LT) 200 µl kan örneği ekleyin.
  3. Lizis Tüpüne (LT) 200 µl Lizis Tamponu (AL) ekleyip kapağı kapatın ve puls vorteksleme ile  $\geq 15$  saniye karıştırın.
    - ① Lizisin verimliliğini sağlamak için örnek ve Lizis Tamponu'nun (AL) homojen bir çözelti verecek şekilde iyice karışması son derece önemlidir.
    - ① Lizis Tamponu (AL) yüksek viskoziteli olduğu için dikkatlice pipetleyerek ve uygun bir pipet kullanarak doğru hacimde Lizis Tamponu (AL) eklediğinizden emin olun.
    - ① QIAGEN Protease'ı (QP) doğrudan Lizis Tamponu'a (AL) eklemeyin.

4. 10 dakika boyunca 56°C'de inkübe edin.
5. Kapağın içindeki damlaları gidermek için Lizis Tüpünü (LT) tam hızda  $\geq 5$  saniye boyunca santrifüjleyin.
  - ① Manuel lizis (adım 1–5) cihaz dışında yapılmışsa aşağıdaki adımlar (adım 6–15), manuel lizis için protokol kullanılarak QIAcube Connect MDx üzerinde otomatik hale getirilebilir.
6. Lizis Tüpüne (LT) 200  $\mu$ l etanol (%96–100) ekleyip kapağı kapatın ve puls vorteksleme ile  $\geq 15$  saniye boyunca iyice karıştırın.
7. Kapağın içindeki damlaları gidermek için Lizis Tüpünü (LT) tam hızda  $\geq 5$  saniye boyunca santrifüjleyin.
8. Adım 7'deki lizatın tamamını QIAamp Mini döndürme kolonuna kenarını ıslatmadan dikkatlice uygulayın. QIAamp Mini döndürme kolonu membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.
  - ① Birden fazla örnek işliyorsanız bir seferde sadece bir Lizis Tüpü (LT) açın.
9. QIAamp Mini döndürme kolonunun kapağını kapatın ve 1 dakika boyunca yaklaşık 6000 x g'de santrifüjleyin. QIAamp Mini döndürme kolonunu temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve süzüntüyü içeren tüpü atın.
  - ① 6000 x g hızda (8000 rpm) santrifüj işleminden sonra lizat membrandan tamamen geçmediyse, tam hızda (20.800 x g hıza kadar) 1 dakika boyunca yeniden santrifüjleyin.
  - ① Lizat santrifüjleme sırasında hala membrandan geçmiyorsa sayfa 27'de yer alan adım 1'den başlayarak, örneği atıp izolasyon ve saflaştırmayı yeni örnek materyaliyle tekrarlayın.
10. QIAamp Mini döndürme kolonunu dikkatlice açıp kenarı ıslatmadan 500  $\mu$ l Yıkama Tamponu 1 (AW1) ekleyin. QIAamp Mini döndürme kolonu membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.

11. QIAamp Mini döndürme kolonunun kapağını kapatın ve 1 dakika boyunca yaklaşık 6000 x g'de santrifüjleyin. QIAamp Mini döndürme kolonunu temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve süzüntüyü içeren tüpü atın.
12. QIAamp Mini döndürme kolonunu dikkatlice açıp kenarı ıslatmadan 500 µl Yıkama Tamponu 2 (AW2) ekleyin. QIAamp Mini döndürme kolonu membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçınin.
13. QIAamp Mini döndürme kolonunun kapağını kapatın ve 1 dakika boyunca tam hızda (yaklaşık 20.000 x g veya 14.000 rpm) santrifüjleyin. QIAamp Mini döndürme kolonunu temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve süzüntüyü içeren tüpü atın.

Membranı tamamen kurutmak için tam hızda (yaklaşık 20.000 x g veya 14.000 rpm) 3 dakika boyunca santrifüjleyin.



Kuru santrifüjleme adımının atlanması, aşağı akışlı tahlilin inhibisyonuna yol açabilir.

14. QIAamp Mini döndürme kolonunu yeni bir Elüsyon Tüpüne (ET) yerleştirin ve süzüntüyü içeren yıkama tüpünü (wash tube, WT) atın. QIAamp Mini döndürme kolonunun kapağını dikkatlice açın ve membranın ortasına 50 ila 200 µl Elüsyon Tamponu (AE) uygulayın.



Aşağı akışlı tahlilin inhibisyonuna yol açabilecek, kalan yıkama tamponlarıyla kontaminasyondan kaçınmak için yeni bir Elüsyon Tüpünün kullanılması önemlidir.



Elüsyon Tamponunun (AE) membranın ortasına dağıtılması, nükleik asitlerin ve Elüsyon Tamponunun (AE) optimum şekilde alınmasını sağlamak adına daha küçük elüsyon hacimleri elde etmek bakımından özellikle önemlidir.

15. Kapağı kapatın ve oda sıcaklığında 1 dakika boyunca inkübe edin. DNA elüsyonunu sağlamak için yaklaşık 6000 x g'de (8000 rpm) 1 dakika boyunca santrifüjleyin.



Elüsyon Tüpü kapaklarını, rotorun dönüş yönünün tersine bakacak şekilde yönlendirin (örn. rotor saat yönünde dönüyorsa kapakları saat yönünün tersine bakacak şekilde yönlendirin).



Tüm otomatik prosedürlerde, biten çalışmadan hemen sonra elüatları cihazdan çıkarın ve uygun şekilde saklayın.

## Protokol: Genomik DNA'nın kan örneklerinden, vakum sistemi kullanılarak izolasyonu ve saflaştırılması

Genomik DNA'nın EDTA veya sitrat ile işlenmiş 200 µl'lik tam kan örneklerinden, QIAvac 24 Plus vakum sistemi gibi bir vakum sistemi kullanılarak izolasyonu ve saflaştırılması için.

### Başlamadan önce önemli nokta

Aşağıdaki prosedür, tek bir kan örneğinin işlenmesine yönelik talimatlar sunmaktadır. Bununla birlikte, QIAvac 24 Plus vakum sisteminde aynı anda 24'e kadar örnek işlenebilir.

### Başlamadan önce yapılacaklar

- Kan örneklerini oda sıcaklığına dengeleyin ve iyi karışmış olduklarından emin olun.
- Tüm reaktiflerin ve QIAamp Mini döndürme kolonlarının (kapalı blister ambalaj içinde) oda sıcaklığına dengelendiğinden emin olun.
- Adım 4'te kullanılmak üzere bir ısıtma bloğunu 56°C'ye getirin.
- Yıkama Tamponu 1 (AW1), Yıkama Tamponu 2 (AW2) ve QIAGEN Protease'ın (QP), sayfa 22'de yer alan "Reaktifleri ve tamponları hazırlama" talimatları doğrultusunda hazırlanmış olduğundan emin olun.
- Lizis Tamponu (AL) içinde çökelti oluştuysa, 56°C'de inkübe ederek çözündürün.
- Çapraz kontaminasyonu en aza indirmek için vakum sisteminin her bir luer adaptörüne birer VacConnector (VC) yerleştirin.
- Vakum sisteminin atık şişesinin boş olduğundan ve tüm bağlantıların doğru yapıldığından emin olun.
- Vakum sisteminin çalıştırılmasına, özellikle de bakıma ilişkin ayrıntılar için ürünle verilen el kitabına başvurun.
- QIAGEN'deki kalite kontrol prosedürlerinde her bir kit lotu için işlevsel kit piyasaya sürüm testleri kullanılır. Bu nedenle, farklı kit lotlarından reaktifleri karıştırmayın ve farklı reaktif lotlarından ayrı reaktifleri bir araya getirmeyin.

## Prosedür

1. 20 µl QIAGEN Protease'ı (QP) bir Lizis Tüpü (LT) içine pipetleyin.



Sulandırılmış proteazı kullanmadan önce son kullanma tarihini kontrol edin.

2. Lizis Tüpüne (LT) 200 µl kan örneği ekleyin.

3. Lizis Tüpüne (LT) 200 µl Lizis Tamponu (AL) ekleyip kapağı kapatın ve puls vorteksleme ile  $\geq 15$  saniye karıştırın.



Lizisin verimliliğini sağlamak için örnek ve Lizis Tamponu'nun (AL) homojen bir çözelti verecek şekilde iyice karışması son derece önemlidir.



Lizis Tamponu (AL) yüksek viskoziteli olduğu için dikkatlice pipetleyerek ve uygun bir pipet kullanarak doğru hacimde Lizis Tamponu (AL) eklediğinizden emin olun.



QIAGEN Protease'ı (QP) doğrudan Lizis Tamponu'na (AL) eklemeyin.

4. 10 dakika boyunca 56°C'de inkübe edin.

5. Kapağın içindeki damlaları gidermek için Lizis Tüpünü (LT) tam hızda  $\geq 5$  saniye boyunca santrifüjleyin.

6. Lizis Tüpüne (LT) 200 µl etanol (%96–100) ekleyip kapağı kapatın ve puls vorteksleme ile  $\geq 15$  saniye boyunca iyice karıştırın.

7. Kapağın içindeki damlaları gidermek için Lizis Tüpünü (LT) tam hızda  $\geq 5$  saniye boyunca santrifüjleyin.

8. QIAamp Mini döndürme kolonunu, vakum sisteminin VacConnector'ı (VC) içine yerleştirin. Ana vakum valfinin (vakum sistemi ile vakum manifoldu arasında) ve vidalı kapaklı valfin (vakum manifoldu üzerinde) kapalı olduğundan emin olun. Vakum pompasını açın.

QIAamp Mini döndürme kolonunun kabarcık içine yerleştirildiği yıkama tüpünü (WT) (2 ml) atın.

Vakum yalnızca bağlantı sistemine (kullanılıyorsa) uygulanır; vakum manifolduna uygulanmaz.

9. Adım 7'deki lizatın tamamını QIAamp Mini döndürme kolonuna kenarını ıslatmadan dikkatlice uygulayın. QIAamp Mini döndürme kolonu membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.

**i** Birden fazla örnek işliyorsanız bir seferde sadece bir Lizis Tüpü (LT) açın.

10. Ana vakum valfini açın. Lizat, QIAamp Mini döndürme kolonundan çekildikten sonra ana vakum valfini kapatın ve manifoldu havalandırmak için vakum manifoldu üzerindeki vidalı kapaklı valfi açın. Vakum, manifolddan salındıktan sonra vidalı kapaklı valfi kapatın.

Ana vakum valfini kapattıktan sonra vakum yalnızca bağlantı sistemine (kullanılıyorsa) uygulanır; vakum manifolduna uygulanmaz.

**i** Vakumun hızlıca salınması için vakum manifoldunun vidalı kapaklı valfini kullanın.

**i** Aynı anda birçok QIAamp Mini döndürme kolonu işlemeniz durumunda bu vakumlama adımının süresini kısaltmak adına lizat geçtikten sonra her bir kolonun VacValve'inin kapatılmasını öneririz.

**i** Lizat, 10 dakika geçtikten sonra membran içinden tamamen geçmediyse QIAamp Mini döndürme kolonunu temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin, kapağı kapatın ve 3 dakika boyunca veya lizat tamamen içinden geçene kadar 6000 x g (8000 rpm) hızda santrifüjleyin. QIAamp Mini döndürme kolonunu, başka bir temiz yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve sayfa 32'da yer alan protokoldeki adım 10 ile devam edin.

**i** Lizat santrifüjleme sırasında hala membrandan geçmiyorsa sayfa 31'de yer alan adım 1'den başlayarak, örneği atıp izolasyon ve saflaştırmayı yeni örnek materyaliyle tekrarlayın.



11. QIAamp Mini döndürme kolonuna, kenarını ıslatmadan 750 µl Yıkama Tamponu 1 (AW1) uygulayın. QIAamp Mini döndürme kolonu membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının. Kolon kapağını açık bırakın ve ana vakum valfini açın. Yıkama Tamponu 1 (AW1), QIAamp Mini döndürme kolonundan çekildikten sonra ana vakum valfini kapatın ve manifoldu havalandırmak için vidalı kapaklı valfi açın. Vakum, manifolddan salındıktan sonra vidalı kapaklı valfi kapatın.
12. QIAamp Mini döndürme kolonuna, kenarını ıslatmadan 750 µl Yıkama Tamponu 2 (AW2) uygulayın. QIAamp Mini döndürme kolonu membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının. Kolon kapağını açık bırakın ve ana vakum valfini açın. Yıkama Tamponu 2 (AW2), QIAamp Mini döndürme kolonundan çekildikten sonra ana vakum valfini kapatın ve manifoldu havalandırmak için vidalı kapaklı valfi açın. Vakum, manifolddan salındıktan sonra vidalı kapaklı valfi kapatın.
13. QIAamp Mini döndürme kolonunun kapağını kapatın, vakum sisteminden ayırın ve VacConnector'ı atın (VC). QIAamp Mini döndürme kolonunu temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve membranı tamamen kurutmak için 3 dakika boyunca tam hızda (yaklaşık 20.000 x g veya 14.000 rpm) santrifüjleyin.
- i** Kuru santrifüjleme adımının atlanması, aşağı akışlı tahlilin inhibisyonuna yol açabilir.
14. QIAamp Mini döndürme kolonunu yeni bir Elüsyon Tüpüne (ET) yerleştirin ve süzüntüyü içeren yıkama tüpünü (WT) atın. QIAamp Mini döndürme kolonunun kapağını dikkatlice açın ve membranın ortasına 50 ila 200 µl Elüsyon Tamponu (AE) uygulayın.
- i** Aşağı akışlı tahlilin inhibisyonuna yol açabilecek, kalan yıkama tamponlarıyla kontaminasyondan kaçınmak için yeni bir Elüsyon Tüpünün (ET) kullanılması önemlidir.
- i** Elüsyon Tamponunun (AE) membranın ortasına dağıtılması, nükleik asitlerin ve Elüsyon Tamponunun (AE) optimum şekilde alınmasını sağlamak adına daha küçük elüsyon hacimleri elde etmek bakımından özellikle önemlidir.

15. Kapağı kapatın ve oda sıcaklığında 1 dakika boyunca inkübe edin. DNA elüsyonu sağlamak için 6000 x g (8000 rpm) hızda 1 dakika boyunca santrifüjleyin.



Elüsyon Tüpü (ET) kapaklarını, rotorun dönüş yönünün tersine bakacak şekilde yönlendirin (örn. rotor saat yönünde dönüyorsa kapakları saat yönünün tersine bakacak şekilde yönlendirin).



Bu protokolü gerçekleştirdikten sonra, vakum sistemine yönelik bakım prosedürünü izleyin (daha fazla ayrıntı için vakum sistemi ile birlikte verilen el kitabına bakın).

## Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit, tutarlı ürün kalitesini sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

# Sınırlamalar

Sistem performansı, genomik DNA'nın izolasyonuna yönelik tam kan kullanılarak ortaya konmamıştır.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit'in kullanımı ile ilgili bilgiler "Açıklama ve İlke" bölümünde bulunabilir. Otomatik prosedür, "Protokol: Genomik DNA'nın kan örneklerinden, mikrosantrifüj/QIAcube Connect MDx üzerinde otomatik saflaştırma kullanılarak izolasyonu ve saflaştırılması" bölümünde ayrıntılarıyla açıklanmıştır.

Laboratuvarlarında kullanılan ve QIAGEN performans çalışmalarının kapsamında olmayan herhangi bir prosedür için sistem performansını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

Tanıya yönelik sonuçlar üzerinde olumsuz etki riskini minimuma indirmek üzere aşağı akışlı uygulamalar için yeterli kontroller kullanılmalıdır. Daha ileri doğrulama için "International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (ICH) ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text And Methodology" kılavuz ilkeleri önerilir.

Elde edilmiş herhangi bir tanı amaçlı sonucun diğer klinik veya laboratuvar bulguları ile birlikte yorumlanması gerekir.

# Performans Özellikleri

Geçerli performans özellikleri, [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresindeki ürün sayfasında kaynak sekmesi altında bulunabilir.

# Sorun Giderme Kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu ortaya çıkabilecek sorunların çözümünde yardımcı olabilir. Daha fazla bilgi için ayrıca Teknik Destek Merkezimizdeki Sık Sorulan Sorular sayfasına da bakın: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). QIAGEN Teknik Servisindeki bilim insanları bu el kitabındaki bilgi ve protokollerle ya da örnek ve/veya tahlil teknolojileriyle ilgili herhangi bir sorunuzu cevaplandırmaktan daima mutlu olacaktır (irtibat bilgileri için [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresini ziyaret edin).

## Yorumlar ve öneriler

### Genel kullanım

- a) Pipet uçlarının örnek transferi sırasında tıkanması

Örnek transferinden önce kan örneklerini iyice karıştırın (örneğin tüpleri birkaç defa baş aşağı çevirerek). Donmuş örnekler 37°C'lik bir su banyosunda iyice karışmalarını sağlamak için hafifçe çalkalanarak çabucak çözdürülmeli ve ardından prosedür başlatılmadan önce oda sıcaklığına (15–25°C) dengelenmelidir.

Örneklerde kan pıhtıları bulunmasından kaçınmaya çalışın ve örneği pıhtılar olmadan aktarın. Dondurulmuş örneklerin çözdürülmesi sırasında oluşan kriyopresipitatlar, QIAamp Mini döndürme kolonu membranını tıkar veya otomatik prosedür sırasında sorunlara yol açabilir.

- b) Tıkanmış QIAamp Mini döndürme kolonu

#### **Döndürme iş akışı:**

6000 x g hızda (8000 rpm) santrifüj işleminden sonra lizat membrandan tamamen geçmediyse, tam hızda (20.800 x g hızına kadar) 1 dakika boyunca yeniden santrifüjleyin.

Lizat santrifüjleme sırasında hala membrandan geçmiyorsa adım 1'den başlayarak, örneği atıp izolasyon ve saflaştırmayı yeni örnek materyaliyle tekrarlayın.

#### **Vakumlama iş akışı:**

Akış hızı düşüyse vakumlama süresi uzatılabilir.

Alternatif olarak, kullanılıyorsa VacValve'i kapatın ve lizat kaybı olmadan VacConnector–VacValve grubunu QIAamp Mini döndürme kolonundan dikkatlice çıkarın.

QIAamp Mini döndürme kolonunu vakum manifoldundan çıkarın, 2 ml'lik bir yıkama tüpüne yerleştirin ve örnek membrandan tamamen geçene kadar tam hızda döndürün. Kalan lizati içeren VacConnector–VacValve grubunu tekrar yerine yerleştirin. Vakum pompasını açın, VacValve'i açın ve kalan lizati yüklemeye devam edin.

QIAamp Mini döndürme kolonu tıkanmaya devam ederse yukarıdaki prosedürü tekrarlayın.

Lizat santrifüjleme sırasında hala membrandan geçmiyorsa adım 1'den başlayarak, örneği atıp izolasyon ve saflaştırmayı yeni örnek materyaliyle tekrarlayın.

## Yorumlar ve öneriler

### Genel bilgiler

Tekrarlanan dondurma ve çözündürme nedeniyle kriyopresipitatlar oluşmuş olabilir. Bunlar QIAamp Mini döndürme kolonunu tıkayabilir. 3 defadan fazla dondurulmuş ve çözündürülmüş kan örneklerini kullanmayın. Donmuş örnekler 37°C'lik bir su banyosunda iyice karışmalarını sağlamak için hafifçe çalkalanarak çabucak çözündürülmeli ve ardından prosedür başlatılmadan önce oda sıcaklığına (15–25°C) dengelenmelidir.

- c) Lizis Tamponu (AL) içinde çökelti oluştu  
Lizis Tamponu'ı (AL) 56°C'de inkübe ederek çözün.
- d) Değişken elüsyon hacimleri  
Kazanılan elüatın hacmi, örneğin niteliğine bağlıdır.  
Santrifüjleme sonrasında döndürme kolonu membranı tarafından tutulan kalan Elüsyon Tamponu (AE) nedeniyle, kazanılan elüat hacmi, kolona uygulanan elüsyon tamponu hacminden düşük olabilir.  
Elüsyon Tamponunu (AE) membranın ortasına uygulayın. Elüsyon Tamponunun (AE) membranın ortasına dağıtılması, nükleik asitlerin ve Elüsyon Tamponunun (AE) optimum şekilde alınmasını sağlamak adına daha küçük elüsyon hacimleri elde etmek bakımından özellikle önemlidir.
- e) Yaklaşık 800–900 mbar vakum basıncına ulaşılmadı  
Vakum manifoldu sıkıca kapatılmamıştır. Vakum açıldıktan sonra vakum manifoldunun kapağına bastırın. Vakum basıncına ulaşıp ulaşılmadığını kontrol edin. QIAvac kapağının contası aşınmıştır. Manifoldun contasını görsel olarak kontrol edin ve gerekirse değiştirin.  
VacValves aşınmıştır. Tüm VacValves parçalarını çıkarın ve VacConnectors (VC) ürününü doğrudan luer uzantılarına yerleştirin. QIAamp Mini döndürme kolonlarını VacConnectors (VC) içine yerleştirin, kolonların kapağını kapatın ve vakumu açın. Vakum basıncına ulaşıp ulaşılmadığını kontrol edin. Gerekirse VacValves ürününü değiştirin.  
Vakum pompası bağlantısında kaçak vardır. Tüm luer uzantılarını luer kapakları ile kapatın ve vakum pompasını açın. Pompa açıldıktan sonra vakum basıncının stabil olup olmadığını (ve Vacuum Regulator valfinin kapalı olup olmadığını) kontrol edin. Gerekirse pompa ile vakum manifoldu arasında bağlantı değişimi yapın.  
Vakum basıncına hala ulaşamıyorsa vakum pompasını daha güçlü bir pompayla değiştirin.
- f) Otomatik iş akışında görülen sorunlar için  
QIAcube Connect MDx Kullanım Kılavuzu belgesine ([www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresindeki ürün sayfasında kaynak sekmesi altında bulunabilir) bakın.

### Düşük DNA verimi

- a) Tam olmayan örnek lizisi  
QIAGEN Protease (QP), uzun süre boyunca yüksek sıcaklığa maruz bırakılması halinde etkinliğini yitirebilir. Prosedürü yeni örnekler ve taze QIAGEN Protease (QP) kullanarak tekrarlayın.  
QIAGEN Protease'ı (QP), yukarıdaki talimatlar doğrultusunda Protease Solvent (PS) ile çözdüğünüzden emin olun. Köpürmeyi engellemek için şişeyi birkaç kez baş aşağı çevirerek karıştırın. QIAGEN Protease'ın (QP) tamamen çözüldüğünden emin olun. QIAGEN Protease'ı (QP) doğrudan Lizis Tamponu'na (AL) eklemeyin.  
Lizisin verimliliğini sağlamak için örnek ve Lizis Tamponu'nun (AL) homojen bir çözelti verecek şekilde iyice karışması son derece önemlidir. Lizis Tamponu (AL) yüksek viskoziteli olduğu için dikkatlice pipetleyerek ve uygun bir pipet kullanarak doğru hacimde Lizis Tamponu (AL) eklediğinizden emin olun.

## Yorumlar ve öneriler

- |    |  |  |
|----|--|--|
| b) | %96–100 yerine düşük yüzdeli etanol kullanılması                     | Saflaştırma prosedürünü yeni örnekler ve %96–100 etanol ile tekrarlayın. Metanol veya metiletilketon gibi başka maddeler içeren denatüre alkol kullanmayın.  |
| c) | Buffer AW1 veya Buffer AW2 yanlış hazırlandı                         | Prosedür başlatılmadan önce Buffer AW1 ve Buffer AW2 konsantrasyonlarının doğru hacimde %96–100 etanol ile seyreltilmişinden ve şişe birkaç kez baş aşağı çevrilerek karıştırıldığından emin olun.   |
| d) | Kan örnekleri uygun şekilde saklanmadı                               | Saflaştırılmış DNA'nın verimi ve kalitesi kanın saklanma koşullarına bağlıdır. Daha taze olan kan örnekleri daha iyi sonuçlar verebilir. 10 güne kadar olan kısa süreli saklama için 2–8°C'de saklama öneririz. Bununla beraber, "southern blotting" gibi maksimum parçacık boyutu gerektiren uygulamalar için yalnızca 3 güne kadar 2–8°C'de saklama yapılmasını öneririz çünkü bu süreden sonra düşük seviyelerde DNA bozunması gerçekleşecektir. Uzun süreli saklama (10 günden fazla) için kanı standart bir antikoagülan (yüksek moleküler ağırlıklı DNA gerekiyorsa tercihen EDTA) içeren tüplerde toplayın ve –20 veya –80°C'de saklayın. |
| e) | Donmuş kan örnekleri çözülme sonrasında uygun şekilde karıştırılmadı | Donmuş örnekler 37°C'lik bir su banyosunda iyice karışmalarını sağlamak için hafifçe çalkalanarak çabucak çözülürmeli ve ardından prosedür başlatılmadan önce oda sıcaklığına (15–25°C) dengelenmelidir.   |



## DNA, aşağı akışlı reaksiyonlarda iyi performans göstermiyor










- |    |  |   |
|----|--|---|
| a) | Elüat içinde çok az DNA var veya hiç DNA yok | Olası nedenler için yukarıdaki "Düşük DNA verimi" kısmına bakın. Mümkünse reaksiyona eklenen elüat miktarını artırın.   |
| b) | Uygun olmayan elüsyon hacmi kullanıldı       | Aşağı akışlı uygulamanız için uygun olan maksimum elüat hacmini belirleyin. Aşağı akışlı uygulamaya eklenen elüat hacmini uygun şekilde azaltın veya artırın. Elüsyon hacmi orantılı olarak uyarlanabilir. Daha düşük Buffer AE hacimleriyle elüsyon, daha yüksek nükleik asit konsantrasyonları sağlar ancak daha düşük toplam verimle sonuçlanabilir. |
| c) | Yetersiz DNA kullanıldı                      | Saflaştırılmış DNA'nın miktarını, 260 nm'de spektrofotometrik absorbans ölçümüyle belirleyin.   |
| d) | Fazla DNA kullanıldı                         | Fazla DNA, bazı enzimatik reaksiyonları inhibe edebilir. Saflaştırılmış DNA'nın miktarını, 260 nm'de spektrofotometrik absorbans ölçümüyle belirleyin.  |
| e) | Potansiyel inhibitör taşınması               | Aşağı akışlı tahlilin potansiyel inhibisyonunu önlemek için elüsyon öncesinde kuru santrifüjleme adımı uyguladığınızdan emin olun. Aşağı akışlı tahlilin inhibisyonuna yol açabilecek, kalan yıkama tamponlarıyla kontaminasyondan kaçınmak için yeni bir Elüsyon Tüpünün (ET) kullanılması önemlidir.  |









# Semboller

Aşağıdaki semboller, kullanım talimatlarında veya ambalaj ve etiket üzerinde görülür:

Sembol	Sembol tanımı
 $\Sigma$ <N>	<N> reaksiyon için yeterli reaktif içerir
	Son kullanma tarihi
	Bu ürün, in vitro tanı amaçlı tıbbi cihazlar için Avrupa Yönetmeliği 2017/746'nın gerekliliklerini karşılamaktadır.
	İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Gelince
	Teslim edildikten sonra QIAamp Mini döndürme kolonlarını açın ve 2–8°C'de saklayın
	Katalog numarası
	Lot numarası
	Malzeme numarası (bileşen etiketi)
	Bileşenler
	İçindekiler

Sembol	Sembol tanımı
	Numara
	Küresel Ticaret Parça Numarası
Rn	R, Kullanım Talimatları revizyonu olup n ise revizyon numarasıdır
	Sıcaklık sınırlaması
	Üretici
	Kullanım talimatlarına bakın
	Hacim
	Şişeye etanol kattıktan sonra geçerli tarihi yazın
	Ekleme
	Liyofilize
	Yeniden hazırlama maddesi
	Etanol

Sembol	Sembol tanımı
	Guanidin hidroklorür
	Subtilizin
	Şuna neden olur
	Kullanım talimatlarına bakın
	Önemli not
	Benzersiz cihaz tanımlayıcı

## Sipariş Bilgileri

Ürün	İçerik	Kat. no.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	50 terkip için: QIAamp Mini Spin Columns, Tamponlar, Reaktifler, Tüpler, VacConnectors	61104
<b>İlgili ürünler</b>		
QIAcube Connect MDx*	Cihaz ve parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti	9003070
<b>Aksesuarlar</b>		
QIAvac 24 Plus†	1–24 döndürme kolonunu işlemek için vakum manifoldu: QIAvac 24 Plus Vacuum manifold, Luer Tapalar, Hızlı Bağlantı Elemanları içerir	19413
Vacuum Pump (230 V, 50 Hz)†	Evrensel vakum pompası (34 litre/dak kapasite, 8 mbar mutlak vakum)	84020
VacConnectors (500)†	Luer konektörlerinde QIAamp döndürme kolonlarıyla kullanım için 500 tek kullanımlık konektör	19407
VacValves (24)	QIAvac 24 ve QIAvac 24 Plus ile kullanılmak üzere 24 valf	19408
Vacuum Regulator	QIAvac manifoldları ile kullanılmak üzere	19530
QIAvac Connecting System	Vakum manifoldunu vakum pompasına bağlamak için sistem: Tepsisi, Atık Şişeleri, Borular, Bağlantı Elemanları, Valf, Ölçüm Aleti, 24 VacValves içerir	19419

Ürün	İçerik	Kat. no.
Rotor Adapters (10 x 24)	240 terkip için: 240 Tek Kullanımlık Rotor Adaptörü ve 240 Elüsyon Tüpü (1,5 ml); QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990394
Rotor Adapter Holder	12 tek kullanımlık rotor adaptörü için tutucu; QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990392
Sample Tubes CB (2 ml)	1000 etekli tabansız konik vida kapaklı tüp (2 ml); QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990382
Shaker Rack Plugs	Çalkalayıcı Rafı Tıkaçları (12)	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Reaktif Şişeleri (30 ml) kapaklı; 6'lı paket; QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990393
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	Tek Kullanımlık Filtre Uçları, askılanmış; (8 x 128). QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (1024)	Tek Kullanımlık Filtre Uçları, geniş delikli, askılanmış; (8 x 128); tüm protokoller için gerekli değildir. QIAcube Connect MDx ile kullanılmak üzere	990452
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Tek Kullanımlık Filtre Uçları, askılanmış; (8 x 128). QIAcube Connect MDx ve QIASymphony SP/AS cihazlarıyla kullanım içindir	990332

\* QIAcube Connect MDx tüm ülkelerde mevcut değildir. Daha ayrıntılı bilgi için lütfen QIAGEN Teknik Servisleri ile iletişime geçin.

† Vakum protokolleri ile kullanım için.

Güncel lisanslama bilgileri ve ürüne özgü ret beyanları için ilgili QIAGEN kiti Kullanım Talimatlarına bakın. QIAGEN kiti Kullanım Talimatları [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servislerinden veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

# Belge Revizyon Geçmişi

## Revizyon

## Açıklama

R1, Haziran 2022

Versiyon 3, Revizyon 1

- IVDR ile uyum için Kit Versiyonu 3'e güncelleme
- Açıklama ve İlke bölümünün güncellenmesi
- Sağlanan Materyaller (aktif bileşenlerin eklenmesi) ve Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller bölümlerinin güncellenmesi
- Uyarılar ve Önlemler bölümünün güncellenmesi (Acil durum bilgilerinin ve Bertaraf bölümünün eklenmesi)
- Reaktif Saklama ve Kullanma bölümünün güncellenmesi
- Numune Alma, Saklama ve Kullanma bölümünün güncellenmesi
- Önemli Notlar ve Prosedür bölümlerinin güncellenmesi
- Sınırlamalar bölümünün güncellenmesi
- Performans Özellikleri bölümünün güncellenmesi
- Semboller bölümünün güncellenmesi
- Sipariş Bilgileri bölümünün güncellenmesi

Bu sayfa özellikle boş bırakılmıştır

#### QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit İçin Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanımı herhangi bir alıcının veya ürün kullanıcısının aşağıdaki koşulları kabul ettiği anlamına gelir:

1. rn yalnızca ürünle birlikte ve bu el kitabında verilen protokollere uygun olarak kullanılabilir ve yalnızca panelin içinde bulunan bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN, bu panel ile birlikte verilen bileşenlerin el kitabında ve [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinden ulaşılabilen ek protokollerde belirtilenlerin dışında bu panelin içinde yer almayan herhangi bir bileşenle kullanımı veya birleştirilmesi için kendi fikri mülkiyet haklarının herhangi biri altında lisans hakkı vermez. Bu ek protokollerden bazıları QIAGEN kullanıcıları tarafından QIAGEN kullanıcıları için sağlanmıştir. Bu protokoller QIAGEN tarafından kapsamlı şekilde test edilmemiş veya optimize edilmemiştir. QIAGEN nc tarafların haklarını ihlal etmediğini garanti etmez ve beyan etmez.
2. Açıkça belirtilen lisanslar dışında, QIAGEN bu panel ve/veya kullanımlarının nc tarafların haklarını ihlal etmeyeceğini garanti etmez.
3. Bu panel ve bileşenleri bir kez kullanım için lisanslıdır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açıkça ifade edilenlerin dışında açık veya zımnı diğer tüm lisansları açıkça reddeder.
5. Panelin alıcısı veya kullanıcısı yukarıda yasaklanan eylemlere neden olabilecek veya kolaylaştırılabilecek herhangi bir girişimde bulunmayacağını ve başka birisine izin veremeyeceğini kabul eder. QIAGEN herhangi bir Mahkemede bu Sınırlı Lisans Anlaşması yasaklamalarını uygulayabilir ve bu sınırlı lisans anlaşmasının veya panel ve/veya bileşenleriyle ilgili fikri mülkiyet haklarının herhangi birinin uygulanmasına yol açan tüm durumlarda avukat creti dahil tüm soruşturma ve mahkeme masraflarını geri alabilir.

Güncellenmiş lisans şartları için bkz. [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Ticari Markalar: QIAGEN<sup>®</sup>, Sample to Insight<sup>®</sup>, QIAamp<sup>®</sup>, QIAcube<sup>®</sup> (QIAGEN Group); Sarstedt<sup>®</sup> (Sarstedt AG and Co. KG).

Jun-2022 HB-3030-001 1127543  2022 QIAGEN, tm hakları saklıdır.



