

QIAamp[®] DSP DNA FFPE Tissue Kit Kullanım Talimatları (El Kitabı)



50

Sürüm 2

IVD

İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit ile kullanım içindir



Katalog numarası

REF

60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALMANYA

R2 **MAT**

1130780TR

İçerik

Kullanım Amacı	4
Planlanmış Kullanıcı	4
Açıklama ve İlke	5
Özet ve açıklama	5
Prosedür Prensipleri	5
Sağlanan Materyaller	7
Kit içeriği	7
Kit bileşenleri	8
Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller	9
Ek reaktifler	9
Sarf Malzemeleri	9
Ekipman	9
Uyarılar ve Önlemler	10
Güvenlik bilgileri	10
Acil durum bilgileri	11
Önlemler	11
İmha	12
Reaktif Saklama ve Kullanma	13
Kullanımda stabilite	13
Numune Saklama ve Kullanma	14
Prosedür	15
Protokol: Genomik DNA'nın FFPE Doku Kesitlerinden İzolasyonu	21

Kalite Kontrol.....	25
Sınırlamalar	26
Performans Özellikleri	27
Sorun Giderme Kılavuzu.....	28
Semboller	29
Ek: Kullanım.....	32
Sipariş Bilgileri	33
Belge Revizyon Geçmişi.....	34

Kullanım Amacı

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit, genomik DNA'nın formalinle fikse edilip, parafine gömülmüş (Formalin-fixed, Paraffin-embedded, FFPE) biyolojik numunelerden izolasyonu ve saflaştırılması amacıyla silika-membran teknolojisini (QIAamp teknolojisi) kullanan bir sistemdir.

Manuel örnek hazırlama amaçlarına yöneliktir ve kantitatif veya kalitatif test sonucu vermez.

Planlanmış Kullanıcı

Ürünün in vitro diagnostik (In Vitro Diagnostic, IVD) amaçlar için moleküler biyoloji teknikleri konusunda eğitilmiş teknisyenler ve doktorlar gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılması amaçlanmıştır.

Açıklama ve İlike

Özet ve açıklama

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit, FFPE doku kesitlerinden DNA saflaştırma amacıyla kullanılır. Küçük örnek hacimleri veya boyutlarından genomik ve mitokondriyal DNA'nın saflaştırılmasına ilişkin iyi bilinen QIAamp DNA mikro teknolojisini kullanır. Kitte, silika tabanlı membranın seçici bağlama özellikleri ile esnek elüsyon hacimleri birleştirilir.

Lizis koşulları, genomik DNA'nın bir gecelik inkübasyona ihtiyaç duyulmadan FFPE doku kesitlerinden etkili bir şekilde saflaştırılmasına izin verir. Proteinaz K sindiriminden sonra yüksek bir sıcaklıkta inkübasyon, serbest bırakılan DNA'nın formalin çapraz bağlamasını kısmen gidererek aşağı akışlı tahlillerde potansiyel olarak verimin yanı sıra DNA performansını artırır. FFPE örneklerinden izole edilen DNA'nın sıklıkla taze veya dondurulmuş örneklerden elde edilen DNA'dan daha düşük molekül ağırlığına sahip olduğunu unutmayın. Fragmentasyon derecesi örnek türüne ve süresine ve fiksasyon için kullanılan koşullara bağlıdır.

Örnek lizisinden sonra basit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit prosedürü, birden fazla örneğin eş zamanlı işlenmesi için uygundur.

Laboratuvarında el kitabında açıklanan QIAGEN® performans çalışmalarının kapsamında olmadan kullanılan herhangi bir prosedür için sistem performansını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

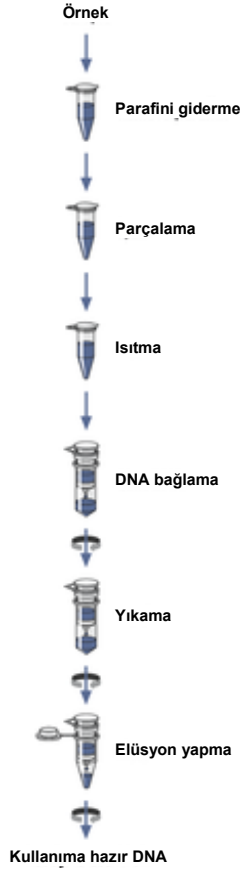
Prosedür Prensipli

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit prosedürü 6 adımdan oluşur (Şekil 1):

- Parafini giderme: Parafin, ksilen içinde çözdürülür ve giderilir.
- Lizis: Örnek, Proteinaz K ile 56 °C'de denatüran koşullar altında parçalanır.

- Isıtma: 90 °C'de inkübasyon formalin çapraz bağlamasını tersine çevirir.
- Bağlama: DNA membrana ve kontaminant kalıntılarına bağlanır.
- Yıkama: Artık kontaminantlar yıkanarak giderilir.
- Elüsyon yapma: Saf, konsantre DNA, membrandan elüe edilir.

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Prosedürü



Şekil 1. QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit prosedürü.

Sağlanan Materyaller

Kit içeriği

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit	(50)
Katalog no.	60404
Hazırlama sayısı	50

	Tanım	Semboller	Adet
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (Yıkama Tüpleri ile QIAamp MinElute Kolonlar)		50
WT	Wash Tubes (Yıkama Tüpleri) (2 mL)		3 x 50
ET	Elution Tubes (Elüsyon Tüpleri) (1,5 mL)		50
LT	Lysis Tubes (Lizis Tüpleri) (2 mL)		50
ATL	Tissue Lysis Buffer (Doku Lizis Tamponu)		10 mL
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
ATE	Elution Buffer (Elüsyon Tamponu)†		12 mL
PK	Proteinase K (Proteinaz K)		1,25 mL
–	Kullanım Talimatları (El Kitabı)		1

* Bir guanidin tuzu içerir. amaşırsu suyu içeren dezenfektanlarla uyumlu değildir. Uyarılar ve Önlemler için bkz. sayfa 10.

† Koruyucu madde olarak sodyum azid içerir.

Kit bileşenleri

Kitin ana bileşenleri aşağıda açıklanmaktadır.

Tablo 1. Sağlanan reaktiflerdeki aktif bileşenler

Reaktif		Aktif Bileşenler	Konsantrasyon (a/a) [%]
Sembol	Ad		
ATL	Buffer ATL	Sodyum dodesil sülfat	≥1 ila <10
AL	Buffer AL	Guanidin hidroklorür Maleik asit	>30 ila <50 ≥0,1 ila <1
AW1	Buffer AW1	Guanidin hidroklorür Etanol	≥50 ila <70 ≥10 ila <90
AW2	Buffer AW2	Etanol	≥10 ila <90
ATE	Buffer ATE	Yok	-
PK	Proteinase K (Proteinaz K)	Proteinase K (Proteinaz K)	≥ 1 ila <10

DNA izolasyonundan sonra ortaya çıkan tanıya yönelik sonuçlar üzerine herhangi bir negatif etki riskini en aza indirmek için aşağı akışlı uygulamalar için yeterli kontroller kullanılmalıdır.

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller

Kimyasallar ile çalışırken daima uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için ürün tedarikçisinden temin edilebilecek uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun.

Ek reaktifler

- Ksilen
- Etanol (%96-100)*

Sarf Malzemeleri

- Kit içinde verilen tüpleri kullanmama kararı verilirse 1,5 veya 2 mL'lik mikrosantrifüj tüplerinin (lizis adımları için) ve 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüplerinin (elüsyon adımları için) kullanılmasını öneririz (örneğin, Sarstedt®'ten temin edilebilecek olanlar, kat. no. 72.690). DNaz/RNaz içermeyen, güvenli kapaklı konik şekilli tüpleri öneririz. QIAGEN performans çalışmaları kapsamında olmayan laboratuvarlarında kullanılan herhangi bir prosedür için sistem performansının onaylanması kullanıcının sorumluluğundadır.
- Pipetler ve pipet uçları (çapraz kontaminasyondan kaçınmak için aerosol bariyerli pipet uçlarını şiddetle öneririz)

Ekipman[†]

- Termomikser[‡], ısıtmalı orbital inkübatör, ısıtma bloğu veya 56 °C, 70 °C ve 90 °C'de inkübasyon sağlayabilen su banyosu
- Mikrosantrifüj[†], 2 mL'lik tüpler için rotorlu
- Vorteksleyici

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

[†] Kullanım öncesinde cihazların üreticinin önerilerine göre kontrol edildiğinden ve kalibre edildiğinden emin olun.

[‡] Örneklerin QIAamp DSP DNA FFPE prosedürlerinde uygun şekilde işlenmesini sağlamak için cihazların, üreticinin önerileri doğrultusunda kalibre edilmesini şiddetle öneririz.

Uyarılar ve Önlemler

QIAGEN'in risk yönetimine dayalı olarak ürün tasarımında tüm amaçlanan risk kontrol tedbirleri uygulanmıştır. Genel artık risk kabul edilir görülmüştür ve cihaz kullanımı güvenli olarak değerlendirilmiştir. Bu el kitabında cihazın güvenliğini ve performansını sağlamak için talimatlar, uyarılar ve önlemler yer almaktadır. Bunlara sıkı bir şekilde uyulmalıdır.

Cihazla ilgili 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.

Güvenlik bilgileri

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

DİKKAT



Örnek hazırlama atığına doğrudan çamaşır suyu veya asidik solüsyonlar EKLEMİYİN.

- Buffer AL ve Buffer AW1, çamaşır suyu ile birleştiğinde yüksek derecede reaktif bileşikler oluşturabilen guanidin hidroklorür içermektedir.
- Bu tamponları içeren sıvılar dökülürse uygun laboratuvar deterjanı ve suyla temizleyin. Dökülen sıvı potansiyel olarak enfeksiyöz madde içeriyorsa, önce etkilenen alanı laboratuvar deterjanı ve suyla, ardından %1 (h/h) sodyum hipoklorit ile temizleyin.
- 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

Buffer AL



İçerik: guanidin hidroklorür ve maleik asit. Uyarı! Yutulursa veya solunursa zararlı olabilir. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur. Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir. Göz tahrişi devam ederse: Tıbbi tavsiye/yardım alın. GÖZE TEMAS ETMESİ HALİNDE: Birkaç dakika suyla iyice yıkayın. Varsa ve çıkarması kolaysa kontak lensleri çıkarın. Yıkamaya devam edin. Kontamine giysileri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. CİLDE TEMAS ETMESİ HALİNDE: Bol miktarda sabun ve suyla yıkayın. Cilt tahrişi oluşursa: Tıbbi tavsiye/yardım alın. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.

Buffer ATL



Uyarı! Hafif derecede cilt tahrişine neden olur. Cilt tahrişi oluşursa: Tıbbi tavsiye/yardım alın.

Buffer AW1



Guanidin hidroklorür içerir. Uyarı! Yutulursa veya solunursa zararlıdır. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur. Kendinizi iyi hissetmezseniz bir ZEHİR MERKEZİNİ veya doktoru arayın. İçeriği/kabı onaylı bir atık imha tesisine atın. Kontamine giysileri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.

Proteinase K



İçerik: Proteinaz K. Tehlike! Hafif derecede cilt tahrişine neden olur. Solunursa alerji veya astım belirtilerine ya da solunum zorluklarına neden olabilir. Tozu/buğuyu/gazı/dumanı/buharı/spreyi solumaktan kaçının. İçeriği/kabı onaylı bir atık imha tesisine atın. Solunum belirtileri yaşıyorsanız: Bir ZEHİR MERKEZİNİ veya doktoru arayın. SOLUNMUŞSA: Solunum zorsa kişiyi temiz havaya çıkarın ve solunum için rahat bir pozisyonda istirahatte tutun. Solunum koruması kullanın.

İmha

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

Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDSs) başvurun. Bu belgeler, her bir QIAGEN kiti ve kit bileşenine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz www.qiagen.com/safety adresinde çevrimiçi olarak PDF biçiminde mevcuttur.

Reaktif Saklama ve Kullanma

QIAamp MinElute kolonları, alındıktan sonra 2-8 °C'de saklanmalıdır ve kit kutusunda gösterilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

Tüm tamponlar, oda sıcaklığında (15-25 °C) saklanabilir ve açılmazsa kit son kullanma tarihine kadar stabildir.

Kullanımda stabilite

Sulandırılmış Buffer AW1 ve AW2, oda sıcaklığında(15-25 °C) 1 yıla kadar veya kitin son kullanma tarihine kadar (hangisi daha önceyse) saklanabilir.

Numune Saklama ve Kullanma

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit, FFPE numuneleriyle kullanım için geliştirilmiştir.

DNA stabilitesi, aşağı akışlı uygulamadaki kullanımını etkileyebilecek numune toplama, kullanma, hazırlama ve saklama koşulları gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Belirli bir aşağı akışlı uygulamanın kullanım talimatlarına başvurmak ve/veya uygun koşulları oluşturmak için tüm iş akışını doğrulayıp onaylamak önemlidir.

FFPE numunelerini toplama, kullanma, hazırlama ve saklamaya ilişkin laboratuvar prosedürleri hakkında genel bilgi için bkz. ISO 20166-3:2018 "Moleküler in vitro diagnostik tetkikler - Formalinle fikse edilip parafine gömülmüş (Formalin-fixed, Paraffin-embedded, FFPE) doku için tetkik öncesi süreçlere yönelik spesifikasyonlar — Bölüm 3: İzole Edilmiş DNA" ve CLSI MM13-A "Numunelerin Moleküler Yöntemlere Yönelik Toplanması, Taşınması, Hazırlanması ve Saklanması; Onaylanmış Kılavuz".

DNA, Buffer ATE içinde elüe edilir ve amplifikasyon reaksiyonlarında veya saklamada kullanıma hemen hazırdır (koşullar kullanıcı gerekliliklerine bağlıdır). Belirli QIAGEN aşağı akışlı uygulamalara ilişkin önerilen saklama koşulları için ilgili kit el kitaplarına bakın.

Prosedür

Başlamadan önce önemli noktalar

- QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit içinde sağlanan tüm reaktifler yalnızca aynı QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit içindeki diğer reaktiflerle kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Optimal performansın elde edilmesi için kitin içindeki reaktiflerde değişim yapılmamalıdır.
- Kiti aldıktan sonra kit bileşenlerini hasar bakımından kontrol edin. Paketler veya tampon şişeleri hasar görmüşse QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüz ile iletişime geçin. Sıvı dökülmesi durumunda "Uyarılar ve Önlemler" bölümüne (sayfa 10) başvurun. Hasarlı kit bileşenlerinin kullanımı düşük kit performansına yol açabileceğinden bunları kullanmayın.
- Başka kitlere ait kit bileşenlerini, lot numaraları birbirine eşit değilse kullanmakta olduğunuz kit ile birlikte kullanmayın.
- Kit reaktiflerinden kaynaklı mikrobiyal kontaminasyondan kaçının.
- Bu kit yalnızca, in vitro tanı amaçlı laboratuvar uygulaması üzerine eğitim almış personel tarafından kullanılmalıdır.
- Cilt yüzeyinden veya tozlu laboratuvar ekipmanından kontaminasyonu önlemek için reaktifler ve örneklerin kullanımı sırasında daima lateks veya vinil eldivenler kullanın. Eller ve toz partikülleri bakteri ve küf taşıyabilir ve kontaminasyonun sık görülen kaynaklarıdır. Eldivenlerinizi sık sık değiştirin ve tüpleri kapalı tutun.
- Kullanılmamış tamponlar, kalıntılar ve örnek kalıntıları, yerel prosedürlere göre imha edilmelidir.
- Kendi plastik malzemenizi kullanıyorsanız saflaştırma prosedürü boyunca DNaz/RNaz içermeyen düşük bağlayıcı, güvenli kapakları olan tek kullanımlık polipropilen 1,5-2 mL'lik konik tüplerin kullanılması önerilir.
- Tüm santrifüjleme adımlarını oda sıcaklığında (15-25 °C) gerçekleştirin.
- Tüm tamponlar oda sıcaklığında (15-25 °C) saklanmalı ve kullanılmadan önce iyice karıştırılmalıdır.

- Adım 9'da kullanmak için bir termomikseri veya ısıtılmalı orbital inkübatörü 56 °C'ye ayarlayın. Termomikser veya ısıtılmalı orbital inkübatör mevcut değilse bunun yerine ısıtma bloğu veya su banyosu kullanılabilir.
- Buffer AL veya Buffer ATL çökelti içeriyorsa 70 °C'ye ısıtarak ve hafifçe çalkalayarak çözün.
- Buffer AW1 ve Buffer AW2'nin aşağıdaki talimatlara göre hazırlandığından emin olun.
- 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.

Tamponların hazırlanışı

Buffer ATL hazırlama

- Prosedüre başlamadan önce Buffer ATL içinde çökelti oluşup oluşmadığını kontrol edin. Gerekirse, hafifçe sallayarak 70 °C'de ısıtma yoluyla çözün.

Buffer AL hazırlama

- Prosedüre başlamadan önce Buffer AL içinde çökelti oluşup oluşmadığını kontrol edin. Gerekirse, hafifçe sallayarak 70 °C'de ısıtma yoluyla çözün.

Buffer AW1 hazırlama

- 19 mL konsantre Buffer AW1 içeren şişeye 25 mL etanol (%96-100)* ekleyin. Etanol eklendiğini belirtmek için şişe etiketindeki onay kutusunu işaretleyin. Sulandırılmış Buffer AW1, oda sıcaklığında (15-25 °C) 1 yıla kadar veya kitin son kullanma tarihine kadar (hangisi daha önceyse) saklanabilir. Tamponun etiketine sulandırma tarihini yazmanızı öneririz.

Not: Prosedüre başlamadan önce sulandırılmış Buffer AW1'i çalkalayarak karıştırın.

Buffer AW2 hazırlama

- 13 mL konsantre Buffer AW2 içeren şişeye 30 mL etanol (%96-100)* ekleyin. Etanol eklendiğini belirtmek için şişe etiketindeki onay kutusunu işaretleyin. Sulandırılmış Buffer AW2, oda sıcaklığında (15-25 °C) 1 yıla kadar veya kitin üzerindeki son kullanma tarihine kadar (hangisi daha önceyse) saklanabilir. Tamponun etiketine sulandırma tarihini yazmanızı öneririz.

Not: Prosedüre başlamadan önce sulandırılmış Buffer AW2'yi çalkalayarak karıştırın.

Başlangıç materyali

DNA saflaştırmasının başlangıç materyali FFPE dokusunun kesilmiş kesitleridir (ideal olarak taze kesilmiş). Birden fazla kesit 1 hazırlamada birleştirilebilir. Başlangıç materyalinizin niteliği hakkında bilginiz yoksa preparat başına en fazla 3 kesit ile başlanması önerilir.

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

Kullanıcı, kesit sayısını, kesit kalınlığını ve kesit yüzey alanını laboratuvarında kullanan prosedürler için optimize etmelidir. Kit, QIAGEN aşağı akışlı uygulama ile birlikte kullanılıyorsa talimatlar için ilgili el kitabına bakın.

Çapraz kontaminasyondan kaçınmaya yönelik kullanım prosedürü

Nükleik asit amplifikasyonu teknolojilerinin duyarlılığı nedeniyle, QIAamp MinElute kolonları kullanılırken örnekler arasında çapraz kontaminasyondan kaçınmak için şu önlemler gereklidir:

- Tüpleri dokuyla aşırı şekilde doldurmayın.
- Dokuyu kazırken örnekler arasında bistürileri değiştirin.
- Örneği veya solüsyonu QIAamp MinElute kolonuna dikkatli bir şekilde uygulayın. Örneği, kolon kenarını ıslatmadan QIAamp MinElute kolonuna pipetleyin.
- Sıvı transferleri arasında daima pipet uçlarını değiştirin. Aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanılmasını öneririz.
- Örnek yıkama adımlarını gerçekleştirirken daima yeni yıkama tüpleri kullanın.
- Tüp kapaklarının vortekslemeden ve santrifüjlemeden önce tamamen kapalı olduğundan emin olun.
- QIAamp MinElute kolonunun santrifüjlemeden önce tamamen kapalı olduğundan emin olun.
- Tüm puls vorteksleme adımlarından ve 90 °C'de inkübasyon adımlarından sonra, kapakların iç kısmındaki damlaları gidermek için mikrosantrifüj tüplerini kısa bir süre santrifüjleyin.
- Her defasında yalnızca 1 QIAamp MinElute kolonu açın ve aerosol oluşturmaktan kaçının.
- Örnekler arasında daima bistürileri değiştirin.
- Sıvı transferleri arasında daima pipet uçlarını değiştirin. Çapraz kontaminasyonu minimuma indirmek üzere aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanılmasını ve birden fazla adımlı pipetleri kullanmaktan kaçınılmasını öneririz.
- Daima tek kullanımlık eldiven kullanın ve örnek materyaliyle kontamine olup olmadığını düzenli olarak kontrol edin. Kontamine olduklarından şüphelenirseniz eldivenleri atın.
- Her defasında yalnızca 1 tüp açın.

Santrifüjleme

QIAamp MinElute kolonlar çoğu standart 1,5-2 mL'lik mikrosantrifüj tüplerine uyar. QIAamp MinElute kolonlarını santrifüjleme, santrifüj gürültüsünü azaltmak için yaklaşık 6000 x g hızında gerçekleştirilir. Tam hızda santrifüjleme DNA verimlerini iyileştirmez. Bununla birlikte QIAamp MinElute kolonlarının tam hızda santrifüjlenmesi prosedürün 2 adımında gereklidir: membranlar yıkandıktan sonraki kuru santrifüjleme adımı ve elüsyon adımı. Tam hızda santrifüjleme aynı zamanda ksilen muamelesi ve etanol yıkama adımından sonra örneği aşağı indirmek için de gereklidir.

Tüm santrifüjleme adımları oda sıcaklığında (15-25 °C) gerçekleştirilmelidir. Düşük santrifüjleme sıcaklığı optimal altı ekstraksiyona yol açabilir.

QIAamp MinElute kolonlarını bir mikrosantrifüjde işleme

- QIAamp MinElute kolonlarını mikrosantrifüje yerleştirmeden önce daima kapatın.
- QIAamp MinElute kolonu membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.
- Kalıntı fraksiyonları tehlikeli atıklar içerebilir ve uygun şekilde imha edilmelidir.
- Birden fazla örneğin verimli şekilde paralel işlenmesi için santrifüjlemeden sonra QIAamp MinElute kolonlarının aktarılabileceği bir rafın yıkama tüpleriyle doldurulmasını öneririz. Kalıntıyı içeren kullanılmış yıkama tüpleri atılabilir ve QIAamp MinElute kolonlarını içeren yeni yıkama tüpleri doğrudan mikrosantrifüje yerleştirilebilir.
- Tam örnek izlenebilirliğinin tüm işlem boyunca korunduğundan emin olun.

Safılaştırılmış DNA'yı elüe etme

Küçük başlangıç hacimleri gerektiren aşağı akışlı uygulamalar için (örneğin, bazı PCR tahlilleri), daha konsantre bir elüat tahlil duyarlılığını artırabilir ancak aynı zamanda potansiyel inhibitörlerin konsantrasyonunda bir artışla da sonuçlanabilir.

Elüsyon hacmindeki bir artış, elüattaki DNA konsantrasyonunu azaltır.

Geri kazanılan elüat hacmi, QIAamp MinElute kolonuna uygulanan Buffer ATE hacminden yaklaşık 5 µL daha az olabilir. Örneğin, 20 µL'lik bir elüsyon hacmi ≥15 µL'lik bir elüat ile sonuçlanır. Geri kazanılan elüatın hacmi, örneğin niteliğine bağlıdır.

Laboratuvarında kullanılan prosedürler için elüsyon hacmini optimize etmek kullanıcının sorumluluğundadır. Belirli QIAGEN aşağı akışlı uygulamalar için gerekli olan ve önerilen elüsyon hacimlerine yönelik kit el kitaplarına bakın.

Verimler kolonun, santrifüjlemeden önce Buffer ATE ile oda sıcaklığında, örneğin 5 dakika inkübe edilmesi halinde artırılabilir. Elüe edilen DNA, 1,5 mL'lik elüsyon tüplerinde (birlikte verilir) toplanabilir. Elüe edilen DNA için saklama koşulları, kullanıcı tanımlı gerekliliklere bağlıdır. Belirli QIAGEN aşağı akışlı uygulamalar için önerilen saklama koşullarına yönelik kit el kitaplarına bakın.

Protokol: Genomik DNA'nın FFPE Doku Kesitlerinden İzolasyonu

Prosedür

1. Bistüri kullanarak fazlalık parafini örnek bloğundan kazıyın.
2. Standart laboratuvar uygulamasını izleyerek kesitleri kesin (bkz. "Başlangıç materyali" bölümü, sayfa 17). Kullanıcı, kesit sayısını, kesit kalınlığını ve kesit yüzey alanını laboratuvarında kullanan prosedürler için optimize etmelidir. Tüm prosedür boyunca örneklerin izlenebilirliğinin korunduğundan emin olun.
3. Steril bistüri kullanımıyla kesitlerdeki dokuyu hemen kazıyarak bir Lizis Tüpüne (birlikte verilir) koyun. Mevcut tüm dokunun tüpe yerleştirildiğinden emin olun. Örneğe 1 mL ksilen ekleyin, kapağı kapatın ve parafin çözünene kadar şiddetli bir şekilde vorteksleyin (örneğin, 10 saniye). Ksilenin dökülmesinden, örnekler arasındaki çapraz kontaminasyondan ve ksilen ile muhtemel temastan kaçınmak için tüpün tamamen kapalı olduğundan emin olun.

Not: Ksileni davlumbazlarda veya diğer uygun muhafaza aparatında kullanın.

4. Doku pelletini toplamak için oda sıcaklığında yaklaşık 2 dakika boyunca tam hızda santrifüjleyin. Doku pelleti oluşmamişsa bu adımı tekrar edin.

Not: Düşük santrifüjleme sıcaklığı optimal altı ekstraksiyona yol açabilir.

5. Süpernatanı pipetleme yoluyla çıkarın ve atın. Pelleti tutun.

Süpernatan ksilen içerir, bu madde tehlikeli bir atıktır ve yerel düzenlemelere göre uygun şekilde imha edilmelidir.

6. Doku pelletine 1 mL etanol (%96-100) ekleyin ve vorteksleyerek iyice karıştırın. Etanol, örnekteki artık ksileni ekstrakte eder ve uygun şekilde imha edilmelidir.

7. Oda sıcaklığında yaklaşık 2 dakika boyunca tam hızda santrifüjleyin.

Süpernatanı pipetleme yoluyla dikkatli bir şekilde çıkarın. Pelleti çıkarmayın.

İnce bir pipet ucu kullanarak artık etanolü dikkatli bir şekilde giderin. Tüpü açın ve 15-40 °C'de tüm artık etanol buharlaşana kadar inkübe edin. Artık etanolün giderilmesi ekstraksiyon başarısı için önemlidir.

Not: Daha düşük inkübasyon sıcaklığı, buharlaşma süresini yavaşlatırken daha yüksek sıcaklık, pelleti süspansiyon etmeyi zorlaştıracak şekilde fazla kurutabilir.

8. Pelleti 180 µL Buffer ATL içinde yeniden süspansiyon edin. 20 µL Proteinaz K ekleyin ve vorteksleyerek karıştırın.

Not: Maksimum verim geri kazanımı sağlamak için pelletin ATL tamponunda iyi bir şekilde yeniden süspansiyon edilmesi gerekir.

9. 56 °C'de yaklaşık 1 saat boyunca (örnek tamamen çözünene kadar) inkübe edin.

10. 1 saat boyunca 90 °C'de inkübe edin.

90 °C'de Buffer ATL içinde inkübasyon, nükleik asitlerin formaldehit modifikasyonunu kısmen tersine çevirir. Daha kısa inkübasyon süreleri veya daha düşük inkübasyon sıcaklıkları DNA kalitesini ve miktarını etkileyebilir. Yalnızca 1 ısıtma bloğu kullanılıyorsa 56 °C'lik inkübasyondan sonra, ısıtma bloğu 90 °C'ye ulaşana kadar örneği oda sıcaklığında bırakın.

11. Kapağın içindeki damlaları gidermek için tüpü kısa süre santrifüjleyin.

12. Örneğe 200 µL Buffer AL ekleyin ve vorteksleyerek iyice karıştırın. Daha sonra 200 µL etanol (%96-100) ekleyin ve tekrar vorteksleyerek iyice karıştırın.

Homojen bir solüsyon elde etmek için örneğin, Buffer AL'nin ve etanolün vorteksleme veya pipetleme yoluyla hemen ve iyice karıştırılması önemlidir. Birden fazla örnek işlenirken zamandan tasarruf etmek için Buffer AL ve etanol 1 adımda önceden karıştırılarak birlikte eklenebilir. Buffer AL ve etanolün eklenmesi sırasında beyaz renkli bir çökelti oluşabilir. Bu çökelti QIAamp prosedürüne engel olmaz. Daima taze karışım kullanın ve kullanımdan hemen sonra atın.

13. Kapağın içindeki damlaları gidermek için tüpü kısa süre santrifüjleyin.

14. Tüm lizatı dikkatli bir şekilde ve kenarı ıslatmadan QIAamp MinElute kolonuna (2 mL'lik yıkama tüpü içinde) aktarın, kapağı kapatın ve 6000 x g hızında ≥ 1 dakika boyunca santrifüjleyin. QIAamp MinElute kolonunu temiz bir 2 mL'lik yıkama tüpüne (birlikte verilir) yerleştirin ve kalıntıyı içeren yıkama tüpünü atın.

Lizat, santrifüjleme işleminden sonra membrandan tamamen geçmemişse QIAamp MinElute kolonu boş kalana kadar daha yüksek hızda tekrar santrifüjleyin.

15. QIAamp MinElute kolonunu dikkatli bir şekilde açın ve kenarı ıslatmadan 500 μ L sulandırılmış Buffer AW1 ekleyin. Kapağı kapatın ve 6000 x g hızında ≥ 1 dakika boyunca santrifüjleyin. QIAamp MinElute kolonunu temiz bir 2 mL'lik yıkama tüpüne yerleştirin ve kalıntıyı içeren yıkama tüpünü atın.
16. QIAamp MinElute kolonunu dikkatli bir şekilde açın ve kenarı ıslatmadan 500 μ L sulandırılmış Buffer AW2 ekleyin. Kapağı kapatın ve 6000 x g hızında ≥ 1 dakika boyunca santrifüjleyin. QIAamp MinElute kolonunu temiz bir 2 mL'lik yıkama tüpüne yerleştirin ve kalıntıyı içeren yıkama tüpünü atın.

QIAamp MinElute kolonu ile kalıntı arasında temastan kaçınılmalıdır. Santrifüj rotorunu dengelediğinizden emin olun. Bazı santrifüj rotorları yavaşlama sırasında titreşim yaratarak, etanol içeren kalıntının QIAamp MinElute kolonuna temas etmesine neden olabilir. QIAamp MinElute kolonunu ve yıkama tüpünü rotordan çıkarırken, kalıntının QIAamp MinElute kolonuna temas etmemesi için dikkatli olun.

17. Membranı kurutmak için tam hızda (yaklaşık 20.000 x g) yaklaşık 3 dakika boyunca santrifüjleyin.

Elüata etanol taşınması, bazı aşığı akışlı uygulamalarda sorunlara yol açabilir.

18. QIAamp MinElute kolonunu temiz bir 1,5 mL'lik elüsyon tüpüne (birlikte verilir) yerleştirin ve kalıntıyı içeren yıkama tüpünü atın. QIAamp MinElute kolonunun kapağını dikkatli bir şekilde açın ve membranın ortasına 20-200 µL Buffer ATE uygulayın.

Önemli: Küçük elüsyon hacimleri (<50 µL) kullanıyorsanız bağlı DNA'nın tam elüsyonunu sağlamak için Buffer ATE'yi membranın ortasına dağıtın. QIAamp MinElute kolonları elüsyon hacmi seçiminde esneklik sağlar. Aşağı akışlı uygulamanın gerekliliklerine göre bir hacim seçin. Elüat hacmi, kolona uygulanan elüsyon solüsyonunun hacminden yaklaşık 5 µL daha az olacaktır.

19. Kapağı kapatın ve oda sıcaklığında (15-25 °C) en az 1 dakika boyunca inkübe edin. Tam hızda (yaklaşık 20.000 x g) ≥1 dakika boyunca santrifüjleyin.

Santrifüjlemeden önce Buffer ATE ile yüklenen QIAamp MinElute kolonunun oda sıcaklığında yaklaşık 5 dakika boyunca inkübe edilmesi DNA verimini artırabilir.

Kalite Kontrol

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

Sınırlamalar

Kit performansı, genomik DNA'nın izolasyonuna yönelik FFPE dokuları kullanılarak ortaya konmuştur.

Az veya fazla fiksasyon DNA kalitesini etkileyebilir, bu da aşağı akışlı tahlillerde performansın düşmesine neden olabilir.

Artık formalin, Proteinaz K sindirim adımını engelleyebilir, yerleştirmeden önce örneklerin tam dehidrasyonunu sağlayın.

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

Diagnostik sonuçlar üzerine negatif bir etki riskini minimuma indirmek üzere aşağı akışlı uygulamalar için yeterli kontroller kullanılmalıdır. Daha ileri doğrulama için International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (ICH) (Teknik Gereklilikler Uluslararası Uyumlaştırma Konferansı) *ICH Q2 (R1) Validation Of Analytical Procedures (Analitik Prosedürlerin Doğrulanması): Text And Methodology (Metin ve Metodoloji)* kılavuz ilkeleri önerilir.

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

QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit kullanılarak RNA, örnekte mevcut olduğu takdirde DNA ile birlikte saflaştırılabilir.

Performans Özellikleri

Geçerli performans özellikleri için www.qiagen.com adresinin ürün sayfasındaki kaynaklar sekmesine bakın.

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 bakın: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN Teknik Servislerindeki bilim insanları bu el kitabındaki bilgi ve protokollerle ya da örnek ve/veya tahlil teknolojileriyle ilgili herhangi bir sorunuzu cevaplandırmaktan daima mutlu olacaktır (iletişim bilgileri için www.qiagen.com adresini ziyaret edin).

Yorumlar ve öneriler

Tıkanmış QIAamp MinElute Kolonları

- | | |
|--------------------------------------|--|
| a) Başlangıç materyali çok fazla | Başlangıç materyali miktarını azaltın. Doğru miktarda başlangıç materyali kullanmak önemlidir (bkz., sayfa 17). |
| b) Santrifüjleme sıcaklığı çok düşük | Santrifüjleme sıcaklığı 15-25 °C olmalıdır. Bazı santrifüjler, 20 °C'ye ayarlı olsa bile 15 °C altına soğutma yapabilir. Bu ise, QIAamp MinElute Kolonlarını tıkayabilen çöktiller oluşmasına neden olabilir. Bu meydana gelirse, santrifüjleme sıcaklığını 15-25 °C'ye ayarlayın. |

Düşük DNA verimi

- | | |
|--|---|
| a) Başlangıç materyali çok fazla | QIAamp MinElute döndürme kolonunun aşırı yüklenmesi nükleik asit verimlerini önemli ölçüde düşürür. Başlangıç materyali miktarını düşürün (bkz., sayfa 17). |
| b) DNA'nın halen RNeasy MinElute döndürme kolonu membranına bağlı olması | DNA elüsyonunu tekrar edin, ancak QIAamp MinElute döndürme kolonunu santrifüjleme öncesinde ATE tamponu (Elüsyon tamponu) ile 10 dakika boyunca masaüstünde inkübe edin. |
| c) Tamponların/reaktiflerin yanlış saklanması | QIAamp MinElute döndürme kolonlarının kit alındıktan sonra 2-8 °C'de saklanması gerekir. Uzun süre boyunca daha yüksek sıcaklıklara maruziyet işlev kaybına yol açabileceğinden doğru saklama sıcaklığını teyit edin. |

Düşük A_{260}/A_{280} değeri

A_{260}/A_{280} ölçümü için nükleik asit seyreltmek üzere su kullanılması

Saflik ölçümü öncesinde örneği seyreltmek için su değil, 10 mM Tris Cl, pH 7,5 kullanın.












DNA'nın aşağı akışı tahlillerde/uygulamalarda iyi performans göstermemesi







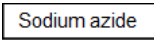



Etanol taşınması

QIAamp MinElute kolonlarının tam hızda santrifüjlenmesi prosedürün 2 adımında gereklidir: Buffer AW2 ile ikinci yıkama sırasında, QIAamp MinElute döndürme kolonu membranını kurutmak için 15-25 °C'de 2 dakika boyunca $\geq 8.000 \times g$ hızında santrifüjleme yapıldığından emin olun. Santrifüjleme işleminin ardından, kolonun kalıntılarla temas etmemesine özen göstererek kolonu toplama tüpünden çıkarın. Ardından kolonu yeni bir toplama tüpüne yerleştirin ve 5 dakika boyunca tam hızda santrifüjleyin. Tam hızda santrifüjleme aynı zamanda ksilen muamelesi ve etanol yıkama adımından sonra örneği aşağı indirmek için de gereklidir.

Semboller

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

Sembol	Sembol tanımı
 <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
	Katalog numarası
	Lot numarası
	Materyal numarası (bileşen etiketlemesi)
	Bileşenler
	İçerik
	Numara
	Küresel Ticaret Parça Numarası

Sembol	Sembol tanımı
R _n	R, Kullanım Talimatları revizyonu olup n ise revizyon numarasıdır
	Sıcaklık sınırlaması
	Üretici
	Kullanım talimatlarına bakın
	Güneş ışığından uzak tutun
	Uyarı/dikkat
	Proteinase K (Proteinaz K)
	Sodyum azid
	Gelince
	Şişeye etanol kattıktan sonra geçerli tarihi yazın
	Etanol

Sembol**Sembol tanımı****ADD**

Ekleme

GuHCl

Guanidin hidroklorür

MALEIC ACID

Maleik asit

UDI

Benzersiz cihaz tanımlayıcı

Ek: Kullanım

Genel kullanım

Cilt yüzeyinden veya tozlu laboratuvar ekipmanından kontaminasyonu önlemek için reaktifler ve örneklerin kullanımı sırasında daima lateks veya vinil eldivenler kullanın. Eller ve toz partikülleri bakteri ve küf taşıyabilir ve kontaminasyonun sık görülen kaynaklarıdır. Eldivenlerinizi sık sık değiştirin ve tüpleri kapalı tutun. Kit reaktiflerinden kaynaklı mikrobiyal kontaminasyondan kaçının.

Tek kullanımlık plastik malzemeler

Prosedür boyunca steril, tek kullanımlık polipropilen tüpler kullanılması önerilir.

Sipariş Bilgileri

Ürün	İçerik	Kat. no.
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit —genomik DNA'nın parafine gömülmüş dokulardan saflaştırılması için		
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (50)	50 DNA hazırlığı için: 50 QIAamp MinElute Kolonu, Proteinaz K, Tamponlar, Yıkama Tüpleri (2 mL), Elüsyon Tüpleri (1,5 mL), Lizis Tüpleri (2 mL)	60404

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

Belge Revizyon GemiŖi

Revizyon

Açıklama

R1, Haziran 2022

- IVDR ile uyum için Kit Sürümü 2'ye yapılan güncelleme
- Açıklama ve İlke bölümünü güncelleme
- Gerekli olan ancak sağlanmayan materyaller bölümünü güncelleme
- Uyarı ve önlemler bölümünü güncelleme
- Reaktif Saklama ve Kullanma bölümünü güncelleme
- Sorun Giderme kılavuzu bölümünü güncelleme
- Eki güncelleme

R2, Ŗubat 2023

- Numuneyi Saklama ve Kullanma bölümünü güncelleme

QIAamp DSP DNA Kit için Sınırlı Lisans Sözleşmesi

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

1. Ürün yalnızca ürünle birlikte ve bu el kitabında verilen protokollere uygun olarak kullanılabilir ve yalnızca panelin içinde bulunan bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN ürünü sağlanan protokoller, bu el kitabı ve www.qiagen.com adresinde bulunan ek protokollerde tanımlananlar dışında bu panele dahil edilmemiş herhangi bir bileşen ile panelin içindeki bileşenleri kullanma veya birleştirme açısından herhangi bir fikri mülkiyeti altında bir lisans vermez. Bu ek protokollerden bazılarını QIAGEN kullanıcıları tarafından QIAGEN kullanıcıları için sağlanmıştır. Bu protokoller QIAGEN tarafından kapsamlı şekilde test edilmemiş veya optimize edilmemiştir. QIAGEN üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediğini garanti etmez ve beyan etmez.
2. Açıkça belirtilen lisanslar dışında, QIAGEN bu panel ve/veya kullanımının üçüncü 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 edilenden dışında açık veya zımni diğer tüm lisansları açıkça reddeder.
5. Panelin alıcısı veya kullanıcısı yukarıda yasaklanan eylemlere neden olabilecek veya bu eylemleri kolaylaştırabilecek herhangi bir girişimde bulunmayacağını ve başka birisine izin vermeyeceğini 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 ücreti dahil tüm soruşturma ve mahkeme masraflarını geri alabilir.

Güncellenmiş lisans şartları için bkz. www.qiagen.com.

Ticari Markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, MinElute® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.).

Şub-2023 HB-3033-002 1130780TR © 2023 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

