

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



Versio 2



**IVD** In vitro -diagnostiikkaan

**REF** 61104

**HB** 1071108FI



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

Puh: +49-2103-29-0

R2 **MAT** 1071108FI



## QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN on johtava innovatiivisten näyte- ja määritystekniikoiden toimittaja. QIAGENin tuotteet mahdollistavat kaikkien biologisten näytteiden sisällön eristämisen ja tunnistamisen. Pitkälle kehitetyt ja laadukkaat tuotteemme ja palvelumme takaavat luotettavan prosessin näytteestä tulokseen.

QIAGENin urauurtavan toiminnan ydinalueita ovat seuraavat:

- DNA:n, RNA:n ja proteiinien puhdistus
- nukleiinihappojen ja proteiinien määritykset
- microRNA-tutkimus ja RNAi
- näyte- ja määritystekniikoiden automatisointi.

Tavoitteenamme on toimittaa tuotteita, joiden avulla asiakkaamme saavuttavat menestystä ja läpimurtoja. Katso lisätietoja osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Sisältö

Käyttötarkoitus	4
Yhteenveto ja selitykset	4
Verisolujen lyysaus	5
Genomisen DNA:n sitoutuminen QIAamp Mini spin column -putken kalvoon	5
Automaattinen puhdistus	6
Toimitetut materiaalit	9
Sarjan sisältö	9
Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)	11
Turvallisuustiedot	13
Reagenssien säilytys ja käsittely	15
Näytteen käsittely ja säilytys	15
Tärkeitä ilmoituksia	19
Tärkeitä huomioitavia seikkoja ennen protokollan aloittamista	19
Reagenssien ja puskureiden valmistelemine	19
QIAamp Mini spin column -putkien käsittely	21
Genomisen DNA:n eluoiminen	21
Genomisen DNA:n tuotto ja laatu	21
QIAvac 24 Plus -tyhjiöjärjestelmän valmistelemine	22
Protokolla: Genomisen DNA:n eristys ja puhdistus verinäytteistä tyhjiöjärjestelmän avulla	24
Protokolla: Genomisen DNA:n eristys ja puhdistus verinäytteistä mikrosentrifugin avulla	28
Laadunvarmistus	31
Suorituskykyominaisuudet	31
Suorituskyky myöhemmissä määrityksissä	32
Merkinnät	37
Lähdeviitteet	38
Yhteystiedot	39
Tilaustiedot	40

## Käyttötarkoitus

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit on järjestelmä, jossa käytetään piidioksidikalvotekniikkaa (QIAamp-tekniikkaa) genomisen DNA:n eristämiseen ja puhdistamiseen biologisista näytteistä.

Tuote on tarkoitettu ammattihenkilöiden, kuten molekyylibiologiatekniikoiden koulutuksen saaneiden teknikoiden ja lääkäreiden käyttöön.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit on tarkoitettu in vitro -diagnostiikkaan.

## Yhteenveto ja selitykset

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sisältää vakiintunutta tekniikkaa, jotta genomisen DNA voidaan nopeasti ja helposti eristää ja puhdistaa 200 µl:sta kokoverta.

QIAamp DSP DNA Blood Mini -toimenpiteet, jotka on suunniteltu samanaikaiseen useiden verinäytteiden käsittelyyn, tuottaa käyttövalmista puhdistettua DNA:ta. Toimenpiteet sopivat tuoreelle tai pakastetulle kokoverelle sekä verelle, jota on käsitelty sitraatilla tai EDTA:lla.

Yksinkertaiset QIAamp DSP -pyöritys- ja tyhjiötoimenpiteet sopivat useiden näytteiden käsittelyyn samaan aikaan. Jotkin QIAamp-pyöritystoimenpiteet voidaan automatisoida täysin QIAcube®-laitteessa parempaa standardointia ja helppokäyttöisyyttä varten (katso sivu 6).

Edeltävä leukosyyttien erottelu ei ole tarpeen. Toimenpiteet eivät edellytä fenolin tai kloroformin eristystä tai alkoholisaostusta, ja ne edellyttävät käyttäjältä vain vähän toimia, mikä mahdollistaa mahdollisesti tartuntavaarallisten näytteiden turvallisen käsittelyn. Toimenpiteet on suunniteltu pitämään näytteiden välinen ristikontaminaatio mahdollisimman vähäisenä. Puhdistettu DNA on valmis käytettäväksi PCR:ssä tai muissa sovelluksissa tai vaihtoehtoisesti se voidaan säilyttää -25 °C...-15 °C:ssa myöhempää käyttöä varten.

## Testin periaatteet

Kukin QIAamp DSP DNA Blood Mini -toimenpide koostuu neljästä vaiheesta:

- Verinäytteen solujen lyysaus
- Solulysaatin genomisen DNA:n sitoutuminen QIAamp Mini spin column -putken kalvoon
- Kalvon peseminen
- Genomisen DNA:n eluointi kalvosta

Tämä käsikirja sisältää protokollat kahteen vaihtoehtoiseen QIAamp DSP DNA Blood Mini -toimenpiteeseen: pyöritystoimenpiteeseen, jossa tarvitaan sentrifugia, ja tyhjiötoimenpiteeseen, jossa tarvitaan sentrifugia ja tyhjiöjärjestelmää (katso vuokaavio sivulla 8).

### Verisolujen lyysaus

Näytteet lyysataan denaturointiolosuhteissa korkeissa lämpötiloissa. Lyyssaus tehdään QIAGEN Protease (QP) -proteaasin ja Lysis Buffer (AL) -lyysauspuskurin avulla.

### Genomisen DNA:n sitoutuminen QIAamp Mini spin column -putken kalvoon

Genomisen DNA:n sitoutuminen QIAamp Mini spin column -putken kalvoon optimoidaan lisäämällä lyyssatteihin ensin etanolia. Kukin lyyssatti lisätään sitten QIAamp Mini spin column -putkeen ja genomisen DNA adsorboituu piidioksidikalvoon, kun lyyssatti imeytyy sen läpi tyhjiöpaineen tai keskipakoisvoiman vaikutuksesta.

## Automaattinen puhdistus

DNA:n puhdistus QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjan avulla voidaan automatisoida kokonaan QIAcube-laitteessa. Innovatiivinen QIAcube käyttää edistynyttä tekniikkaa QIAGEN spin column -putkien käsittelyyn, mikä mahdollistaa automaattisen, alhaisen tuotantotehon näytteen valmistelun ottamisen osaksi laboratorion työnkulkua vaivattomasti. Näytteen valmistelu QIAcube-laitteella tapahtuu samalla tavoin kuin manuaalisessa toimenpiteessä (ts. lyysaus, sitoutuminen, pesu ja eluointi), joten voit jatkaa QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjan käyttämistä korkealaatuisen DNA:n puhdistamiseen.

Lisätietoa automaattisesta toimenpiteestä on asianomaisessa protokollalomakkeessa, joka löytyy osoitteesta [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube). Ajantasaiset protokollalomakkeet voi ladata ilmaiseksi tai ne voi pyytää QIAGENin teknisen huollon osastolta (katso sivu 39).

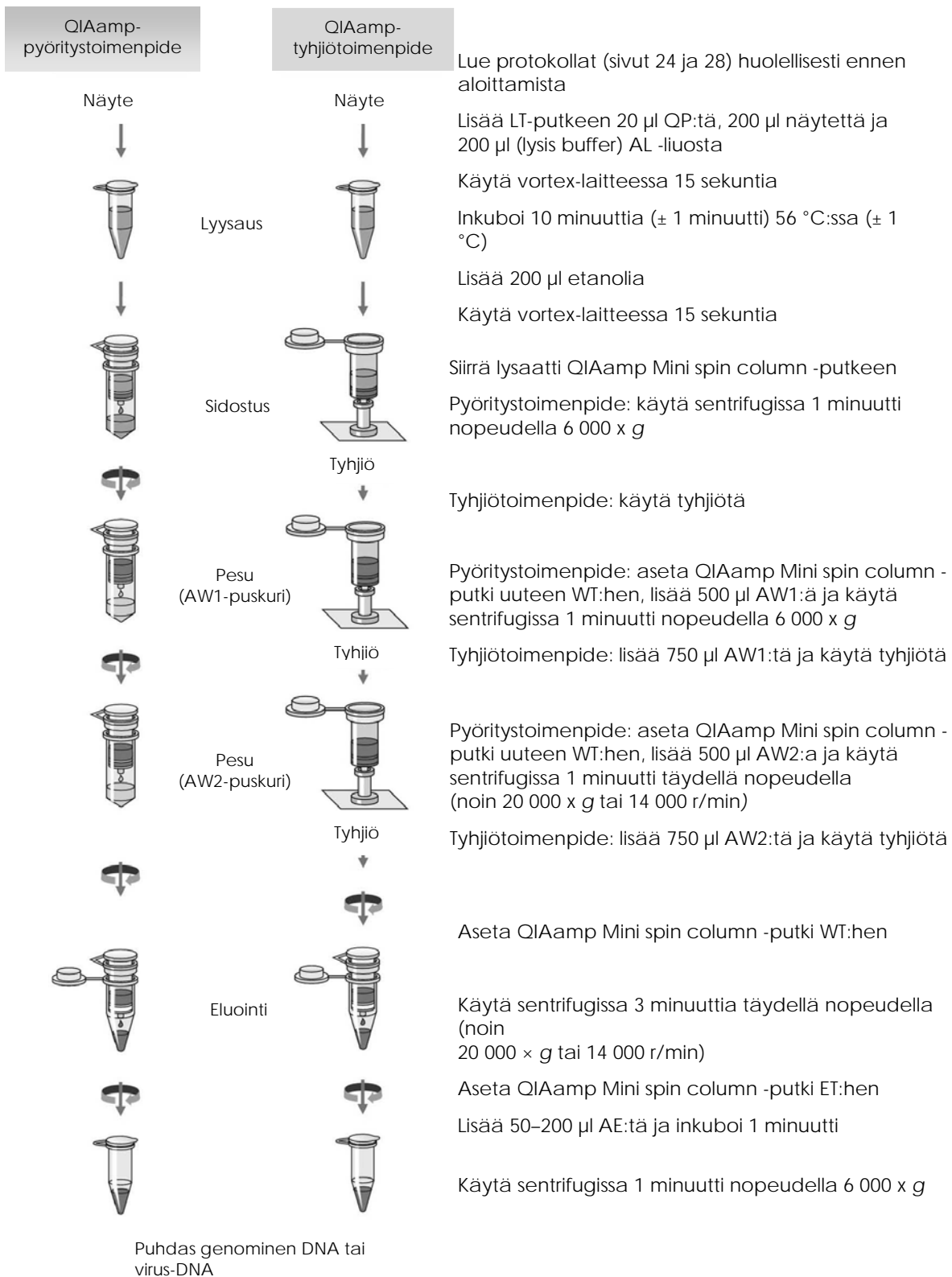
Jos QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit automatisoidaan QIAcube-laitteessa, laite voi käsitellä alle 50 näytettä automaattisen pipetoinnin aiheuttamien kuolleiden tilavuuksien, haihtumisen ja reagenssin lisäkulutuksen vuoksi. QIAGEN takaa vain 50 näytteen valmistelun käytettäessä QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjaa manuaalisesti.



Kuva 1. QIAcube.



QIAamp DSP DNA Blood Mini Spin -  
putki ja tyhjiötoimenpiteet







## Toimitetut materiaalit

### Sarjan sisältö

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
Tuotenumero			61104
Preparaatioiden määrä			50*
QIAamp Mini Spin	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (WT) (QIAamp Mini Spin Column -putket ja Wash Tube (WT) -pesuputket) (2 ml)	<b>COL</b>	50
ET	Elution Tubes (uuttamisputket) (1,5 ml)	<b>ELU TUBE</b>	50
VC	VacConnectors (VacConnector-liittimet)	<b>VAC CON</b>	50
LT	Lysis Tubes (liuotusputket) (1,5 ml)	<b>LYS TUBE</b>	50
WT	Wash Tubes (pesuputket) (2 ml)	<b>WASH TUBE</b>	3 x 50
AL	Lysis Buffer (liuotuspuskuri) <sup>†</sup>	<b>LYS BUF</b>	12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Pesupuskuri 1) <sup>†</sup> (tiiviste)	<b>WASH BUF 1 CONC</b>	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Pesupuskuri 2) <sup>‡</sup> (tiiviste)	<b>WASH BUF 2 CONC</b>	13 ml
AE	Elution Buffer (uuttamispuskuri) <sup>‡</sup>	<b>ELU BUF</b>	25 ml
PS	Protease Solvent (Proteaasiliuotin) <sup>‡</sup>	<b>QPROT SOLV</b>	2 ml
QP	QIAGEN Protease (QIAGEN-proteaasi) <sup>§</sup>	<b>QPROT</b>	1 pullo

CD		1
Käsikirja		1

\* Jos QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit automatisoidaan QIAcube-laitteessa, laite voi käsitellä alle 50 näytettä automaattisen pipetoinnin aiheuttamien kuolleiden tilavuuksien, haihtumisen ja reagenssin lisäkulutuksen vuoksi. QIAGEN takaa vain 50 näytteen valmistelun käytettäessä QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjaa manuaalisesti.

† Sisältää guanidiinihydrokloridia. Ei sovellu käytettäväksi yhdessä valkaisuaineita sisältävien desinfiointiaineiden kanssa. Lisätietoja on sivulla 14.

‡ Sisältää natriumatsidia säilöntäaineena.

§ Uudelleensuspendointitilavuus 1,2 ml. Katso QIAGEN Protease -proteaasin valmisteleminen sivulla 19.

## Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)

Työskenneltäessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja saa tuotekohtaisista käyttöturvallisuustiedotteista (MSDS, material safety data sheet), jotka ovat saatavana tuotteen toimittajalta.

### Pyöritys- ja tyhjiötoimenpiteet

- Etanolia (96–100 %)
- Pipetit\* ja pipetin kärjet (ristikontaminaation välttämiseksi suosittelemme vahvasti käyttämään pipetin kärkiä, joissa on aerosoliesteet)
- Kertakäyttökäsineitä
- Lämpölevy\* näytteiden lyysaukseen 56 °C:ssa (suosittelemme Eppendorf® Thermomixer comfort -laitetta ja lämpölevyä 1,5 ml:n mikrokoeputkille†)
- Mikrosentrifugi\*
- Mittasylinteri (50 ml)
- Vortex-laite

### Vain tyhjiötoimenpiteeseen

- QIAvac 24 Plus -tyhjiöjärjestelmä (QIAvac 24 Plus, tuotenro 19413, QIAvac Connecting System, tuotenro 19419 ja Vacuum Pump, tuotenro 84020) tai vastaava yleinen laboratorion tyhjiöjärjestelmä

\* Jotta näytteiden oikea käsittely QIAamp DSP DNA Blood Mini -toimenpiteiden aikana voitaisiin varmistaa, suosittelemme vahvasti, että välineet (esim. pipetit ja lämmityslevyt) kalibroidaan niiden valmistajan antamien ohjeiden mukaan.

† Tämä ei ole täydellinen luettelo toimittajista, ja se ei sisällä monia tärkeitä biologisten tarvikkeiden myyjiä.

## Turvallisuustiedot

Työskenneltäessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja on asianmukaisissa käyttöturvallisuustiedotteissa. Ne ovat saatavina PDF-tiedostoina Internet-osoitteessa [www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx](http://www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx). Voit hakea, lukea ja tulostaa kaikkien QIAGEN-tarvikesarjojen ja niiden osien käyttöturvallisuustiedotteet.

HUOMIO: ÄLÄ lisää valkaisuainetta tai happamia liuoksia suoraan näytteen preparointijätteeseen.

Lysis Buffer (AL) ja Wash Buffer 1 (AW1) sisältävät guanidiinihydrokloridia, joka valkaisuaineen kanssa yhdistettynä voi muodostaa herkästi reagoivia aineita. Jos näitä puskureita sisältävää nestettä läikkyy, puhdista se laboratorionkäyttöön sopivalla puhdistusaineella ja vedellä. Jos läikkynyt neste sisältää mahdollisia tartunnanaiheuttajia, puhdista alue ensin laboratorionkäyttöön sopivalla puhdistusaineella ja vedellä sekä sen jälkeen 1 % (v/v) natriumhypokloriitilla. Jos puskuripullot ovat vahingoittuneet tai vuotavat, käytä käsineitä ja suojalaseja, kun hävität pulloja, loukkaantumisen tai muiden vahingoittumisen estämiseksi.

QIAGEN ei ole testannut QIAamp DSP DNA Blood Mini -toimenpiteiden tuottamaa nestemäistä jätettä tartuntavaarallisten ainejäämien osalta. Nestemäisen jätteen kontaminoituminen jäljelle jääneestä tartuntavaarallisesta materiaalista on epätodennäköistä, mutta sen mahdollisuutta ei voida kokonaan sulkea pois. Siksi nestemäinen jäte on katsottava tartuntavaaralliseksi, ja sitä on käsiteltävä ja se on hävitettävä paikallisten turvasäädösten mukaisesti.

Seuraavat vaara- ja turvalausekkeet koskevat QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjan komponentteja.

Lysis Buffer (AL) ja Wash Buffer 1 (AW1)



Sisältää guanidiinihydrokloridia: haitallista, ärsyttävää. Vaara- ja turvalausekkeet:\* R22-36/38, S13-26-36-46.

QIAGEN Protease (QP)



Sisältää subtilisiiniä: herkistävä, ärsyttävä. Vaara- ja turvalausekkeet:\* R37/38-41-42, S22-24-26-36/37/39-46.

Hätätietojärjestelmä (24 h)

Hätätapauksessa lääketieteellistä tietoa antaa englanniksi, ranskaksi ja saksaksi 24 tuntia vuorokaudessa:

Mainzin myrkytystietokeskus Saksassa

Puhelin: +49-6131-19240

\* R22: Haitallista nieltynä. R36/38: Ärsyttää silmiä ja ihoa. R37/38: Ärsyttää hengityselimiä ja ihoa. R41: Vakavan silmävaurion vaara. R42: Altistuminen hengitysteitse voi aiheuttaa herkistymistä. S13: Ei saa säilyttää yhdessä elintarvikkeiden eikä eläinravinnon kanssa. S22: Vältettävä pölyn hengittämistä. S24: Varottava kemikaalin joutumista iholle. S26: Roiskeet silmistä on huuhdeltava välittömästi runsaalla vedellä ja mentävä lääkäriin. S36: Käytettävä sopivaa suojavaatetusta S36/37/39: Käytettävä sopivaa suojavaatetusta. S46: Jos ainetta on nieltä, hakeuduttava heti lääkärin hoitoon ja näytettävä tämä pakkaus tai etiketti.

## Reagenssien säilytys ja käsittely

QIAamp Mini spin column -putkia on säilytettävä 2–8 °C:ssa vastaanottamisen jälkeen ja niitä voidaan käyttää pakkaukseen merkittyyn vanhenemispäivään asti.

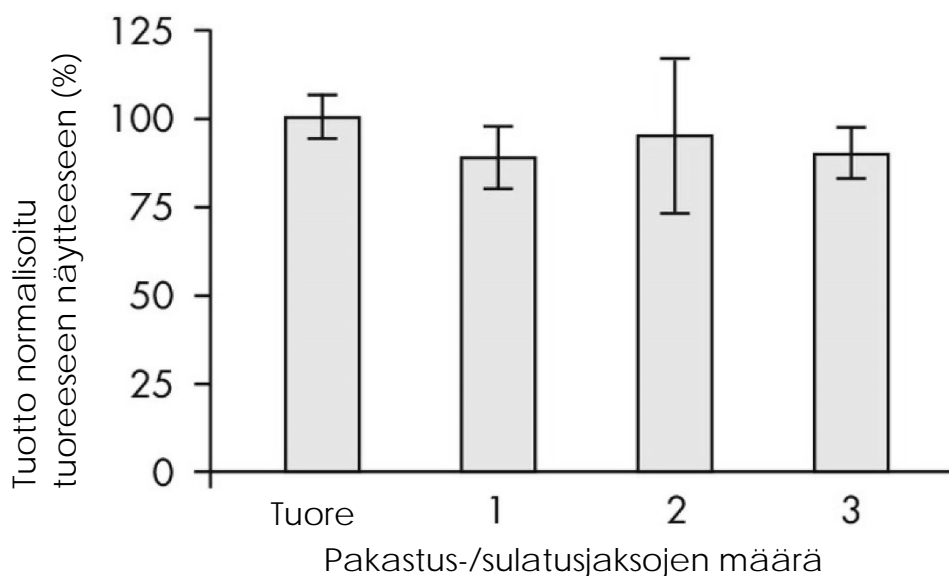
Kaikkia puskureita voidaan säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C) pakkauksessa ilmoitettuun vanhenemispäivään asti.

Kylmäkuivattua QIAGEN Protease (QP) -proteaasia voidaan säilyttää huoneenlämmössä (15–25 °C) pakkauksessa ilmoitettuun vanhenemispäivään asti ilman vaikutusta suorituskykyyn. Käyttövalmiiksi saatettu QIAGEN Protease on vakaata enintään 1 vuoden, kun sitä säilytetään 2–8 °C:ssa, mutta vain pakkauksessa ilmoitettuun vanhenemispäivään asti.

Käyttövalmiiksi saatettu pesupuskuri 1 (AW1) ja käyttövalmiiksi saatettu pesupuskuri 2 (AW2) ovat vakaita enintään 1 vuoden, kun niitä säilytetään huoneenlämmössä (15–25 °C), mutta vain pakkauksessa ilmoitettuun vanhenemispäivään asti.

## Näytteen käsittely ja säilytys

Pakastettujen näytteiden sulatuksen aikana muodostuneet jääsaostumat tukkivat QIAamp Mini spin column -putken kalvon. Jos jääsaostumia näkyy, vältä niiden aspiroimista näytteen aspiroinnin yhteydessä. Verinäytteiden pakastamisen ja sulattamisen vaikutukset DNA:n puhdistukseen käytettäessä QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjaa on määritetty (katso kuva 2).



Kuva 2. Verinäytteiden pakastamisen ja sulattamisen vaikutukset. EDTA:lla käsitelty veri pakastettiin ja sulatettiin enintään kolme kertaa, sitten siitä puhdistettiin DNA QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjalla. Lasketut DNA:n tuotot on normalisoitu

tuoreesta näytteestä saatuun tuottoon (100 %). Kaavion yksi palkki esittää tulokset 32 replikaatista (keskiarvo  $\pm$  keskihajonta).



QIAamp DSP DNA Blood Mini -toimenpiteissä puhdistetun DNA:n määrä kunkin verinäytteen valkosolumäärän mukainen. Pyöritys- tai tyhjiötoimenpiteen avulla genominen DNA puhdistettiin terveiden luovuttajien 200 µl:n verinäytteistä. Erilaisia ensisijaisia putkia ja antikoagulantteja voidaan käyttää verinäytteiden ottamiseen QIAamp DSP DNA Blood Mini -toimenpiteitä varten (Taulukko 1).

Taulukko 1. Keskimääräiset DNA:n suhteelliset tuotot verinäytteistä, jotka otettiin erilaisiin ensisijaisiin putkiin ja joissa käytettiin eri antikoagulantteja

Ensisijainen putki	Valmistaja	Tuotenumero	Nimellinen tilavuus	Keskimääräinen tuotto*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 µg
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 µg
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 µg
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 µg
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 µg
Vacurette® K3E	Greiner Bio- One®	455036	9 ml	6,5 µg
Vacurette 9NC	Greiner Bio- One	454382	2 ml	6,3 µg

Genominen DNA puhdistettiin terveiltä luovuttajilta saaduista 200 µl:n verinäytteistä ( $4,0 \times 10^6$  solua/ml –  $9,0 \times 10^6$  solua/ml).

\* Kunkin ensisijaisen putken osalta keskimääräinen tuotto on määritetty 11 triplikaatista näytteestä.

### Jäännöskontaminanttien poistaminen

Kun genominen DNA pysyy sitoutuneena QIAamp Mini Spin Column -putken kalvoon, kontaminantit peseytyvät tehokkaasti pois ensimmäisellä Wash Buffer 1 (AW1) -pesupuskurilla ja sen jälkeen Wash Buffer 2 (AW2) -pesupuskurilla.

### Puhtaan genomisen DNA:n eluoiminen

Genominen DNA eluoidaan QIAamp Mini Spin Column -putken kalvosta 50–200 µl:lla Elution Buffer (AE) -eluutiopuskuria. Eluitu DNA on valmis käytettäväksi erilaisissa myöhemmissä määrityksissä, myös useissa eri diagnostisissa in vitro -määrityksissä.

## Tärkeitä ilmoituksia

### Tärkeitä huomioitavia seikkoja ennen protokollan aloittamista

- Kun vastaanotat pakkauksen, tarkista, että siinä ei ole vaurioita. Jos läpipainopakkaukset tai puskuripullot ovat vahingoittuneet, ota yhteyttä QIAGENin tekniseen tukeen tai paikalliseen jälleenmyyjään. Jos nesteitä on läikkynyt, katso Turvallisuustiedot (sivu 13). Älä käytä vahingoittuneita pakkauksen sisältöjä, koska ne voivat haitata pakkauksen suorituskykyä.
- Vaihda pipetin kärki aina liuoksen siirtojen välillä. Jotta ristikontaminaatioita voitaisiin mahdollisimman hyvin välttää, suosittelemme käyttämään pipetin kärkiä, joissa on aerosolieste.
- Kaikki sentrifugointivaiheet on suoritettava huoneenlämmössä (15–25 °C).
- Käytä aina kertakäyttökäsineitä ja tarkista säännöllisesti, että ne eivät ole kontaminoituneet näytemateriaalista. Hävitä käsiineet, jos ne kontaminoituvat.
- Pidä ristikontaminaation mahdollisuus pienenä avaamalla vain yksi putki kerrallaan.
- Älä korvaa tällä hetkellä käytettävän pakkauksen osia muiden pakkausten osilla, ellei pakkausiin ole merkitty samaa eränumeroa.
- Vältä pakkauksen reagenssien mikrobialista kontaminaatiota.
- Jotta tartuntavaarallisen materiaalin aiheuttama infektiovaara pysyisi mahdollisimman pienenä, suosittelemme työskentelemään laminaarisissa ilmanvirtausolosuhteissa näytteiden lyysaukseen asti.
- Tätä pakkausta saavat käyttää vain henkilöt, jotka ovat saaneet koulutusta diagnostisiin in vitro -laboratoriotoimenpiteisiin.

### Reagenssien ja puskuroiden valmisteleminen

- QIAGEN Protease -proteaasin valmisteleminen

Lisää 1,2 ml Protease Solvent (PS) -proteaasiliuotinta kylmäkuivatun QIAGEN Protease (QP) -proteaasin pulloon ja sekoita huolellisesti. Vältä vaahtoamista tekemällä sekoitus kääntämällä pulloa ylösalaisin useita kertoja. Varmista, että QIAGEN Protease (QP) on liuennut kokonaan.

**i** Älä lisää Qiagen Protease (QP) -proteaasia suoraan Lysis Buffer (AL) -puskuriin.

■ Wash Buffer 1 -puskurin valmisteleminen

Lisää 25 ml etanolia (96–100 %) mittasylinterillä pulloon, joka sisältää 19 ml Wash Buffer 1 (AW1) -pesupuskuritiivistettä. Säilytä käyttövalmiiksi saatettu Wash Buffer 1 (AW1) huoneenlämpötilassa (15–25 °C).

**i** Sekoita käyttövalmiiksi saatettu Wash Buffer 1 (AW1) aina kääntämällä pulloa ylösalaisin useita kertoja ennen toimenpiteen aloittamista.

■ Wash Buffer 2 -puskurin valmisteleminen

Lisää 30 ml etanolia (96–100 %) mittasylinterillä pulloon, joka sisältää 13 ml Wash Buffer 2 (AW2) -pesupuskuritiivistettä. Säilytä käyttövalmiiksi saatettu Wash Buffer 2 (AW2) huoneenlämpötilassa (15–25 °C).

**i** Sekoita käyttövalmiiksi saatettu Wash Buffer 2 (AW2) aina kääntämällä pulloa ylösalaisin useita kertoja ennen toimenpiteen aloittamista.

■ Elution Buffer -eluutiopuskurin valmisteleminen

Sarjan mukana toimitetaan yksi pullo Elution Buffer (AE) -eluutiopuskuriliuosta. Elution Buffer (AE) -puskurin kontaminoitumisen estämiseksi on erittäin suositeltavaa käyttää aerosolin syntymisen estäviä pipettikärkiä, kun Elution Buffer (AE) -puskuria pipetoidaan pullosta. Lisäksi pullon korkki on asetettava takaisin paikalleen heti käytön jälkeen.

**i** Elution Buffer (AE) sisältää säilöntäaineena natriumatsidia, joka näyttää absorbanssin 260 nm:ssä. Siksi kvantifioitaessa DNA:ta eluaatissa absorbanssimittauksella 260 nm:ssä, määritettäessä DNA:n puhtautta eluaatissa absorbanssimittauksilla 260 nm:ssä ja 280 nm:ssä tai skannattaessa absorbanssia 220–350 nm:n alueella on varmistettava, että tyhjä sisältää saman pitoisuuden natriumatsidia kuin eluaatti. Jos esimerkiksi valmistat eluaattia absorbanssimittauksiin laimentamalla 50 µl eluaattia 100 µl:lla vettä, sinun pitäisi sitten valmistella tyhjä laimentamalla 50 µl Elution Buffer (AE) -puskuria 100 µl:lla vettä. Käytä laimennuksiin raikasta, tislattua vettä.

## QIAamp Mini spin column -putkien käsittely

Nukleiinihappoa hyödyntävien monistustekniikoiden herkkyyden takia seuraavia varotoimia tarvitaan käsiteltäessä QIAamp Mini spin column -putkia, jotta näytteiden valmistelun ristikontaminaatiolta välttyttäisiin:

- Lisää näyte tai liuos varovasti QIAamp Mini spin column -putkeen. Pipetoi näyte QIAamp Mini spin column -putkeen kastelematta putken suun reunaa.
- Vaihda pipetin kärki aina liuoksen siirtojen välillä. Suosittelemme käyttämään pipetin kärkiä, joissa on aerosolieste.
- Älä kosketa QIAamp Mini spin column -putken kalvoa pipetin kärjellä.
- Kaikkien pulssivorteksointivaiheiden jälkeen käytä mikrosentrifugiputkia nopeasti sentrifugissa poistaaksesi pisarat korkkien sisäpinnoilta.
- Avaa vain yksi QIAamp Mini spin column -putki kerrallaan ja varo huolellisesti tuottamasta aerosoleja.
- Käytä käsineitä koko toimenpiteen ajan. Jos käsineet ja näyte joutuvat kosketuksiin toistensa kanssa, vaihda käsineet välittömästi.

## Genomisen DNA:n eluoiminen

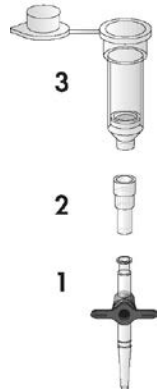
QIAamp Mini spin column -putkesta eluoidun DNA:n määrä voi olla jopa 20 µl pienempi kuin putkeen lisätyn Elution Buffer (AE) -puskurin määrä. Saadun uutteen tilavuus on riippuvainen näytteen luonteesta. Elution Buffer (AE) -puskurin on annettava tasapainottua huoneenlämpöön (15–25 °C), ennen kuin sitä lisätään putkeen. Eluoitu DNA kerätään eluutioputkiin (ET). Jos DNA:ta säilytetään enintään 4 viikkoa, on se suositeltavaa tehdä lämpötilassa 2–8 °C. Pitkäkestoiseen säilytykseen suositellaan lämpötilaa –20 °C.

## Genomisen DNA:n tuotto ja laatu

Eristetyn DNA:n tuotto ja laatu sopivat monentyypisiin myöhempisiin tunnistustoimenpiteisiin molekyyliagnostiikassa. Diagnostiset määritykset on tehtävä valmistajien ohjeiden mukaisesti.

## QIAvac 24 Plus -tyhjiöjärjestelmän valmisteleminen

Varmista, että valmistelet QIAamp Mini spin column -putken, VacConnector (VC) -liittimen ja VacValve-venttiilin oikein (katso kuva 3).



Kuva 3. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjan osien kokoaminen näytteiden tyhjiökäsittelyä varten.

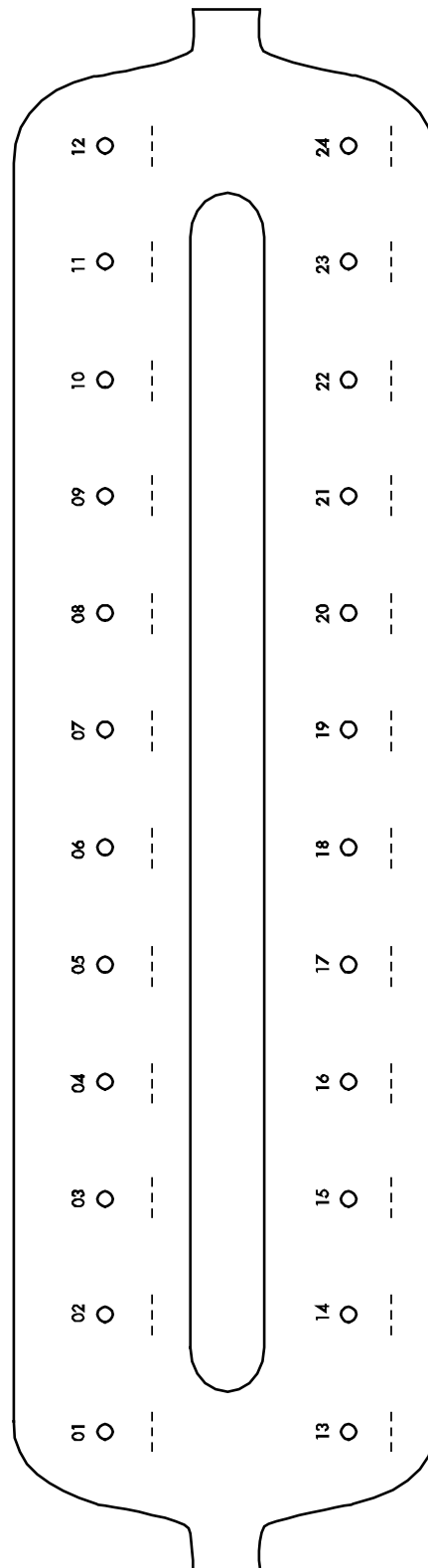
1. VacValve (tulee tyhjiöjärjestelmän mukana)
2. VacConnector (VC)
3. QIAamp Mini spin column -putki

Jos käytät tyhjiötoimenpidettä QIAvac 24 Plus -tyhjiöjärjestelmän kanssa, on suositeltavaa merkitä lyysausputket (lysis tube, LT), eluutioputket (elution tube, ET) ja QIAamp Mini spin column -putket kuvassa 4 (seuraavalla sivulla) esitetyn mallin mukaisesti näytteiden sekoittumisen estämiseksi. Tämän kuvan voi kopioida ja siihen voi merkitä näytteiden nimet. On suositeltavaa käyttää samanlaista mallia käytettäessä muita tyhjiöjärjestelmiä tai käytettäessä pyöritystoimenpidettä.

Päiväys: \_\_\_\_\_

Käyttäjä: \_\_\_\_\_

Ajon tunniste: \_\_\_\_\_



Kuva 4. Lyysausputkien (LT), eluutioputkien (ET) ja QIAamp Mini spin column -putkien merkintämalli käytettäväksi QIAvac 24 Plus -tyhjiöjärjestelmässä.

## Protokolla: Genomisen DNA:n eristys ja puhdistus verinäytteistä tyhjiöjärjestelmän avulla

Genomisen DNA:n eristämiseen ja puhdistamiseen 200 µl:n EDTA- tai sitraattikäsitellyistä kokoverinäytteistä tyhjiöjärjestelmällä, kuten QIAvac 24 Plus -tyhjiöjärjestelmällä.

Tärkeitä huomioita ennen kuin aloitat

- Seuraavassa toimenpiteessä on annettu ohjeet yksittäisen verinäytteen käsittelystä. Enintään 24 näytettä voidaan kuitenkin käsitellä samaan aikaan QIAvac 24 Plus -tyhjiöjärjestelmässä.


Ennen aloittamista suoritettavat valmistelut

- Anna verinäytteiden tasaantua huoneenlämpöön (15–25 °C) ja varmista, että näytteet ovat sekoittuneet hyvin.
- Jos Lysis Buffer (AL) -puskuriin on muodostunut saostumaa, liuota se inkuboimalla 56 °C:ssa.
- Varmista, että Wash Buffer 1 (AW1), Wash Buffer 2 (AW2) ja QIAGEN Protease (QP) on valmistettu kohdassa Reagenssien ja puskkureiden valmisteleminen, sivut 19 ja 20, annettujen ohjeiden mukaan.
- Anna Elution Buffer (AE) -puskurin tasaantua huoneenlämpöön (15–25 °C) käytettäväksi vaiheessa 14.
- Aseta lämpölevy 56 °C:seen; lämpölevyä käytetään vaiheessa 4.
- Minimoi ristikontaminaatio asettamalla VacConnector (VC) jokaiseen tyhjiöjärjestelmän luer-adapteriin.
- QIAGEN-yhtiön laaduntarkkailumenettelyihin kuuluu julkaistun pakkauksen toiminnallinen testaus jokaisesta yksittäisestä pakkauksen valmistuserästä. Älä siis sekoita eri erien pakkauksiin kuuluvia reagensseja keskenään tai käytä muista eristä peräisin olevia yksittäisiä reagensseja pakkauksen kanssa.
- Varmista, että tyhjiöjärjestelmän jätepullo on tyhjä ja että kaikki liitännät on tehty oikein.
- Lisätietoja tyhjiöjärjestelmän toiminnasta, erityisesti huollosta, on sen mukana tulevassa käsikirjassa.




## Toimenpide


1. Pipetoi 20 µl QIAGEN Protease (QP) -proteaasia lyysiputkeen (LT).

 Tarkista rekonstituoidun proteaasin vanhentumispäivämäärä ennen käyttöä.

2. Lisää lyysiputkeen (LT) 200 µl verinäytettä.
3. Lisää lyysiputkeen (LT) 200 µl Lysis Buffer (AL) -puskuria, sulje korkki ja sekoita pulssivorteksilla 15 sekunnin ajan.

Tehokkaan lyysin takaamiseksi on tärkeää, että näyte ja Lysis Buffer (AL) ovat sekoittuneet läpikotaisin ja että liuos on homogeeninen.

 Koska Lysis Buffer (AL) -puskurin viskositeetti on suuri, varmista, että lisäät oikean määrän Lysis Buffer (AL) -puskuria pipetoimalla huolellisesti tai käyttämällä oikeanlaista pipettiä


 Älä lisää Qiagen Protease (QP) -proteaasia suoraan Lysis Buffer (AL) -puskuriin.


4. Inkuboi 56 °C:ssa ( $\pm 1$  °C) 10 minuutin ajan ( $\pm 1$  minuuttia).
5. Käytä lyysiputkea (LT) sentrifugissa  $\geq 5$  sekunnin ajan täydellä nopeudella, jotta pisarat poistuvat korkin sisäpuolelta.
6. Lisää lyysiputkeen (LT) 200 µl etanolia (96–100 %), sulje korkki ja sekoita läpikotaisesti pulssivorteksilla  $\geq 15$  sekunnin ajan.
7. Käytä lyysiputkea (LT) sentrifugissa  $\geq 5$  sekunnin ajan täydellä nopeudella, jotta pisarat poistuvat korkin sisäpuolelta.
8. Aseta QIAamp Mini spin column -putki tyhjiöjärjestelmän VacConnector (VC) -liittimeen. Varmista, että päytyhjiöventtiili (tyhjiöjärjestelmän ja tyhjiöputkiston välillä) ja kierrekorkkiventtiili (tyhjiöputkistossa) ovat kiinni. Kytke virta tyhjiöpumppuun. Hävitä pesuputki (WT) (2 ml), johon QIAamp Mini spin column -putki on asetettu läpipainopakkaukseen.  
Tyhjiö kohdistuu vain liitettyyn järjestelmään (jos käytössä), ei tyhjiöputkistoon.
9. Lisää varovasti kaikki vaiheesta 7 saatu lyaatti QIAamp Mini spin column -putkeen kastelematta sen reunaa. Älä kosketa QIAamp Mini spin column -putken kalvoa pipetin kärjellä.


 Jos käsittelet useita näytteitä, avaa vain yksi lyysiputki (LT) kerrallaan.


10. Avaa päätyhjiöventtiili. Kun lisaatti on vedetty QIAamp Mini spin column -putken läpi, sulje päätyhjiöventtiili ja tyhjennä tyhjiöputkisto avaamalla sen kierrekorkkiventtiili. Sulje kierrekorkkiventtiili, kun tyhjiö on vapautettu putkistosta.

Päätyhjiöventtiilin sulkemisen jälkeen tyhjiö kohdistuu vain liitettyyn järjestelmään (jos käytössä), ei tyhjiöputkistoon.

 Voit vapauttaa tyhjiön nopeasti tyhjiöputkiston kierrekorkkiventtiilillä.

 Jos käsittelet useita QIAamp Mini spin column -putkia samalla kertaa, on suositeltavaa sulkea kunkin putken VacValve sen jälkeen, kun lisaatti on kulkenut sen läpi, jotta tämän tyhjiövaiheen kestoa voidaan lyhentää.

 Jos lisaatti ei ole kokonaan kulkenut kalvon läpi 10 minuutin kuluttua, aseta QIAamp Mini spin column -putki puhtaaseen pesuputkeen (WT), sulje korkki ja käytä sentrifugissa nopeudella 6 000 x g (8 000 r/min) 3 minuutin ajan tai kunnes lisaatti on kulkenut kokonaan läpi. Aseta QIAamp Mini spin column -putki toiseen puhtaaseen pesuputkeen (WT) ja jatka protokollan vaiheesta 10, sivulta 29.


 Jos lisaatti ei vieläkaan läpäise kalvoa sentrifugin käytön aikana, hylkää näyte ja toista eristys ja puhdistus uudella näytemateriaalilla alkaen vaiheesta 1, sivulta 25.

11. Lisää 750 µl Wash Buffer 1 (AW1) -pesupuskuria QIAamp Mini spin column -putkeen putken reunaa kastelematta. Älä kosketa QIAamp Mini spin column -putken kalvoa pipetin kärjellä. Jätä putken korkki auki ja avaa päätyhjiöventtiili. Kun Wash Buffer 1 (AW1) on vedetty QIAamp Mini spin column -putken läpi, sulje päätyhjiöventtiili ja tyhjennä tyhjiöputkisto avaamalla sen kierrekorkkiventtiili. Sulje kierrekorkkiventtiili, kun tyhjiö on vapautettu putkistosta.


12. Lisää 750 µl Wash Buffer 2 (AW2) -pesupuskuria QIAamp Mini spin column -putkeen putken reunaa kastelematta. Älä kosketa QIAamp Mini spin column -putken kalvoa pipetin kärjellä. Jätä putken korkki auki ja avaa päätyhjiöventtiili. Kun Wash Buffer 2 (AW2) on vedetty QIAamp Mini spin column -putken läpi, sulje päätyhjiöventtiili ja tyhjennä tyhjiöputkisto avaamalla sen kierrekorkkiventtiili. Sulje kierrekorkkiventtiili, kun tyhjiö on vapautettu putkistosta.

13. Sulje QIAamp Mini spin column -putken korkki, poista se tyhjiöjärjestelmästä ja hävitä VacConnector (VC). Aseta QIAamp Mini spin column puhtaaseen pesuputkeen (WT) ja käytä sitä

sentrifugissa täydellä nopeudella (noin 20 000 x g tai 14 000 r/min) 3 minuutin ajan, jotta kalvo kuivuu täysin.

 Kuivan sentrifugointikäytön tekemättä jättäminen voi johtaa myöhempien määritysten estymiseen.

14. Aseta QIAamp Mini spin column -putki puhtaaseen eluutioputkeen (ET) ja hävitä suodosta sisältävä pesuputki (WT). Avaa QIAamp Mini spin column -putken korkki varovasti ja lisää 50–200 µl Elution Buffer (AE) -puskuria kalvon keskelle. Sulje korkki ja inkuboi huoneenlämpötilassa (15–25 °C) 1 minuutin ajan. Käytä sentrifugissa nopeudella 6 000 × g (8 000 r/min) 1 minuutin ajan DNA:n eluoimiseksi.

 Noudata tyhjiöjärjestelmän ylläpito-ohjeita tämän protokollan suorittamisen jälkeen (katso tyhjiöjärjestelmän mukana tulleesta käsikirjasta lisätietoja).

## Protokolla: Genomisen DNA:n eristys ja puhdistus verinäytteistä mikrosentrifugin avulla

Genomisen DNA:n eristämiseen ja puhdistamiseen 200 µl:n EDTA- tai sitraattikäsitellyistä kokoverinäytteistä mikrosentrifugilla.

Tärkeitä huomioita ennen kuin aloitat


- Seuraavassa toimenpiteessä on annettu ohjeet yksittäisen verinäytteen käsittelystä. Näytteitä voi kuitenkin käsitellä useita samaan aikaan; määrä on käytetyn mikrosentrifugin kapasiteetin mukainen

Ennen aloittamista suoritettavat valmistelut

- Anna verinäytteiden tasaantua huoneenlämpöön (15–25 °C) ja varmista, että näytteet ovat sekoittuneet hyvin.
- Jos Lysis Buffer (AL) -puskuriin on muodostunut saostumaa, liuota se inkuboimalla 56 °C:ssa.
- Varmista, että Wash Buffer 1 (AW1), Wash Buffer 2 (AW2) ja QIAGEN Protease (QP) on valmistettu kohdassa Reagenssien ja puskkureiden valmisteleminen, sivut 19 ja 20, annettujen ohjeiden mukaan.
- Anna Elution Buffer (AE) -puskurin tasaantua huoneenlämpöön (15–25 °C) käytettäväksi vaiheessa 15.
- Aseta lämpölevy 56 °C:seen; lämpölevyä käytetään vaiheessa 4.
- QIAGEN-yhtiön laaduntarkkailumenettelyihin kuuluu julkaistun pakkauksen toiminnallinen testaus jokaisesta yksittäisestä pakkauksen valmistuserästä. Älä siis sekoita eri erien pakkauksiin kuuluvia reagensseja keskenään tai käytä muista eristä peräisin olevia yksittäisiä reagensseja pakkauksen kanssa.

Toimenpide

1. Pipetoi 20 µl QIAGEN Protease (QP) -proteaasia lyysiputkeen (LT).

 Tarkista rekonstituoidun proteaasin vanhentumispäivämäärä ennen käyttöä.

2. Lisää lyysiputkeen (LT) 200 µl verinäytettä.
3. Lisää lyysiputkeen (LT) 200 µl Lysis Buffer (AL) -puskuria, sulje korkki ja sekoita pulssivorteksilla 15 sekunnin ajan.

Tehokkaan lyysin takaamiseksi on tärkeää, että näyte ja Lysis Buffer (AL) ovat sekoittuneet läpikotaisin ja että liuos on homogeeninen.

**i** Koska Lysis Buffer (AL) -puskurin viskositeetti on suuri, varmista, että lisäät oikean määrän Lysis Buffer (AL) -puskuria pipetoimalla huolellisesti tai käyttämällä oikeanlaista pipettiä

**i** Älä lisää Qiagen Protease (QP) -proteaasia suoraan Lysis Buffer (AL) -puskuriin.

4. Inkuboi 56 °C:ssa ( $\pm 1$  °C) 10 minuutin ajan ( $\pm 1$  minuuttia).
5. Käytä lyysiputkea (LT) sentrifugissa  $\geq 5$  sekunnin ajan täydellä nopeudella, jotta pisarat poistuvat korkin sisäpuolelta.
6. Lisää lyysiputkeen (LT) 200  $\mu$ l etanolia (96–100 %), sulje korkki ja sekoita läpikotaisesti pulssivorteksilla  $\geq 15$  sekunnin ajan.
7. Käytä lyysiputkea (LT) sentrifugissa  $\geq 5$  sekunnin ajan täydellä nopeudella, jotta pisarat poistuvat korkin sisäpuolelta.
8. Lisää varovasti kaikki vaiheesta 7 saatu lyaatti QIAamp Mini spin column -putkeen kastelematta sen reunaa. Älä kosketa QIAamp Mini spin column -putken kalvoa pipetin kärjellä.

**i** Jos käsittelet useita näytteitä, avaa vain yksi lyysiputki (LT) kerrallaan.

9. Sulje QIAamp Mini spin column -putken korkki ja käytä sitä sentrifugissa nopeudella n. 6 000  $\times g$  1 minuutin ajan. Aseta QIAamp Mini spin column -putki puhtaaseen pesuputkeen (WT) ja heitä suodosta sisältävä putki pois.

**i** Jos lyaatti ei ole täysin läpäissyt kalvoa nopeudella 6 000  $\times g$  (8 000 rpm) sentrifugissa käytön jälkeen, käytä sitä sentrifugissa uudelleen täydellä nopeudella (enintään 20 800  $\times g$ ) 1 minuutin ajan.

**i** Jos lyaatti ei vielääkään läpäise kalvoa sentrifugin käytön aikana, hylkää näyte ja toista eristys ja puhdistus uudella näytemateriaalilla alkaen vaiheesta 1, sivulta 28.

10. Avaa QIAamp Mini spin column -putki varovasti ja lisää 500  $\mu$ l Wash Buffer 1 (AW1) -puskuria. Varo kastelemasta putken reunaa. Älä kosketa QIAamp Mini spin column -putken kalvoa pipetin kärjellä.
11. Sulje QIAamp Mini spin column -putken korkki ja käytä sitä sentrifugissa nopeudella n. 6 000  $\times g$  1 minuutin ajan. Aseta QIAamp Mini spin column -putki puhtaaseen pesuputkeen (WT) ja heitä suodosta sisältävä putki pois.
12. Avaa QIAamp Mini spin column -putki varovasti ja lisää 500  $\mu$ l Wash Buffer 2 (AW2) -puskuria. Varo kastelemasta putken reunaa. Älä kosketa QIAamp Mini spin column -putken kalvoa pipetin kärjellä.

13. Sulje QIAamp Mini spin column -putken korkki ja käytä sentrifugissa täydellä nopeudella (n. 20 000 × g tai 14 000 rpm) 1 minuutin ajan. Aseta QIAamp Mini spin column -putki puhtaaseen pesuputkeen (WT) ja heitä suodosta sisältävä putki pois.
14. Käytä sentrifugissa täydellä nopeudella (n. 20 000 × g tai 14 000 rpm) kolmen minuutin ajan, jotta kalvo kuivuisi täysin.



Kuivan sentrifugointikäytön tekemättä jättäminen voi johtaa myöhempien määritysten estymiseen.

15. Aseta QIAamp Mini spin column -putki puhtaaseen eluutioputkeen (ET) ja hävitä suodosta sisältävä pesuputki (WT). Avaa QIAamp Mini spin column -putken korkki varovasti ja lisää 50–200 µl Elution Buffer (AE) -puskuria kalvon keskelle. Sulje korkki ja inkuboi huoneenlämpötilassa (15–25 °C) 1 minuutin ajan. Käytä sentrifugissa nopeudella 6 000 × g tai (8 000 rpm) 1 minuutin ajan DNA:n eluoimiseksi.

## Laadunvarmistus

QIAGENin ISO-sertifioidun laadunvarmistusjärjestelmän mukaisesti jokainen QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjan erä testataan määrättyjen vaatimusten mukaisesti tuotteiden yhdenmukaisen laadun takaamiseksi.

## Rajoitukset

Järjestelmän suorituskyky on määritetty käyttämällä kokoverta genomisen DNA:n eristämiseen.

Käyttäjän vastuulla on validoida järjestelmän suorituskyky kaikissa niissä laboratoriossa käytetyissä menetelmissä, joita QIAGENin tekemät suorituskykytutkimukset eivät kata.

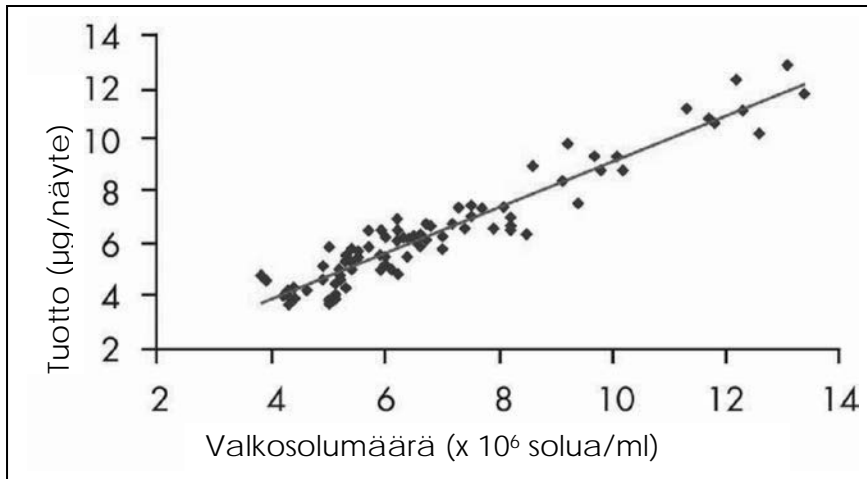
Jotta voidaan minimoida diagnostisiin tuloksiin kohdistuvan negatiivisen vaikutuksen riski, myöhemmissä sovelluksissa on hyödynnettävää riittävää laaduntarkkailua. Lisävalidointiin suositellaan käytettäväksi seuraavia ohjeita: International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH), julkaisussa *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology*.

Saatu diagnostinen tulos on tulkittava yhdessä muiden kliinisten löydösten tai laboratoriolöydösten kanssa.

## Suorituskykyominaisuudet

Puhdistetun DNA:n tuotos

DNA:n tuoton lineaarinen alue käyttämällä QIAamp DSP DNA Blood Mini -tyhjiötoimenpidettä on määritetty terveiden luovuttajien verestä, jossa valkosolumäärä oli  $3,8 \times 10^6$  –  $1,34 \times 10^7$  solua/ml (katso kuva 5, sivu 25).



Kuva 5. DNA:n tuoton lineaarinen alue käyttämällä QIAamp DSP DNA Blood Mini -tyhjiötoimenpidettä ja 200 µl:n eluutiotilavuutta. Terveiden luovuttajien valkosolumäärät määritettiin ja ne olivat alueella  $3,8 \times 10^6$  –  $1,34 \times 10^7$  solua/ml. DNA puhdistettiin verinäytteistä käyttämällä QIAamp DSP DNA Blood Mini -tyhjiötoimenpidettä ja 200 µl:n eluutiotilavuutta. 87 kolminkertaista näytettä käsiteltiin.

## Suorituskyky myöhemmissä määrityksissä

Eristetty genominen DNA on valmis käytettäväksi erilaisissa myöhemmissä määrityksissä, myös useissa eri diagnostisissa in vitro -määrityksissä (taulukot 2–6). Eluutiotilavuuden ja PCR:ssä käytetyn eluaatin määrän vaikutukset PCR:n suorituskykyyn on määritetty (katso taulukko 7).



Taulukko 2. HLA-tyypitys käyttämällä Dynal® AllSet™ SSP -määrittäjiä HLA-A "heikko tarkkuus", HLA-B "heikko tarkkuus", DR "heikko tarkkuus" ja DQ "heikko tarkkuus"

HLA lokus A		HLA lokus B		HLA lokus DR		HLA lokus DQ	
Genotyyppi	Nro	Genotyyppi	Nro	Genotyyppi	Nro	Genotyyppi	Nro
A2/A3	2	B51, B51/ B13 tai B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 tai DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 tai B7/B15	1	DR7/DR15	2	DQ2/DQ5	1
A1/A2	2	B7/B18	1	DR4/DR15	1	DQ2/DQ5	2
A30/A68	1	B7/B44	1	DR4/DR7	1	DQ3	1
A2/A32	1	Muu	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Muu	0			DR15	1	Muu	0
				DR1/DR7	1		
				Muu	0		

Kokoveri kerättiin yksittäisiltä luovuttajilta ja genominen DNA puhdistettiin 200 µl:sta kokoverta käyttämällä QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjaa. Käyttämällä Dynal AllSet+ SSP Assay (Dynal Biotech) -määrittäjiä alleelit tunnistettiin ilmoitetuissa lokuksissa annetussa määrässä yksilöitä. Nro: yksilöiden määrä.

Taulukko 3. Tekijän V Leiden (FV) genotyypitys käyttämällä LightCycler® Factor V Leiden Mutation Detection Kit -sarjaa

Genotyyppi	Numero
Villityyppi	17
FV G16191 A heterotsygootti	13
FV G16191 A homotsygootti	0

Kokoveri kerättiin 30 yksittäiseltä luovuttajalta ja genominen DNA puhdistettiin 200 µl:sta kokoverta käyttämällä QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjaa. Alleelistatus FV G1691 A -lokuksesta määritettiin käyttämällä LightCycler Factor V Leiden Mutation Detection Kit -sarjaa (Roche Group).

Taulukko 4. Tekijän V Leiden (FV) genotyypitys käyttämällä loppuvaiheen PCR:ää ja Pyrosequencing®-analyysiä PSQ-96 SNP-Reagent Kit -sarjan kanssa Pyrosequencing PSQ 96MA -laitteessa

Genotyyppi	Numero
Villityyppi	17
FV G16191 A heterotsygootti	13
FV G16191 A homotsygootti	0

Kokoveri kerättiin 30 yksittäiseltä luovuttajalta ja genominen DNA puhdistettiin 200 µl:sta kokoverta käyttämällä QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjaa. Alleelistatus FV G1691 A -lokuksesta määritettiin käyttämällä loppuvaiheen PCR:ää ja Pyrosequencing-analyysiä PSQ-96 SNP-Reagent Kit -sarjan kanssa Pyrosequencing PSQ 96MA -laitteessa (Biotage).

Taulukko 5. Protrombiinin (PT) genotyypitys käyttämällä loppuvaiheen PCR:ää ja Pyrosequencing-analyysiä PSQ-Q96 SNP-Reagent Kit -sarjan kanssa Pyrosequencing PSQ 96MA -laitteessa

Genotyyppi	Numero
Villityyppi	30
PT G20210A heterotsygootti	0
PT G20210A A homotsygootti	0

Kokoveri kerättiin 30 yksittäiseltä luovuttajalta ja genominen DNA puhdistettiin 200 µl:sta kokoverta käyttämällä QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjaa. Alleelistatus PT G20210A -lokuksesta määritettiin käyttämällä loppuvaiheen PCR:ää ja Pyrosequencing-analyysiä PSQ-96 SNP-Reagent Kit -sarjan kanssa Pyrosequencing PSQ 96MA -laitteessa (Biotage).

Taulukko 6. ApoE-polymorfismien T112C ja C158T analysointi loppuvaiheen PCR:illä sekvensoimalla amplikoni BigDye™ v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit -sarjalla ja eristys ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer -laitteella

Genotyyppi	Numero
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Muu	0

Kokoveri kerättiin 10 yksittäiseltä luovuttajalta ja genominen DNA puhdistettiin 200 µl:sta kokoverta käyttämällä QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjaa. ApoE-polymorfismien T112C ja C158T analysointi loppuvaiheen PCR:illä sekvensoimalla amplikoni BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit -sarjalla ja eristys ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer -laitteella (Life Technologies Corporation).

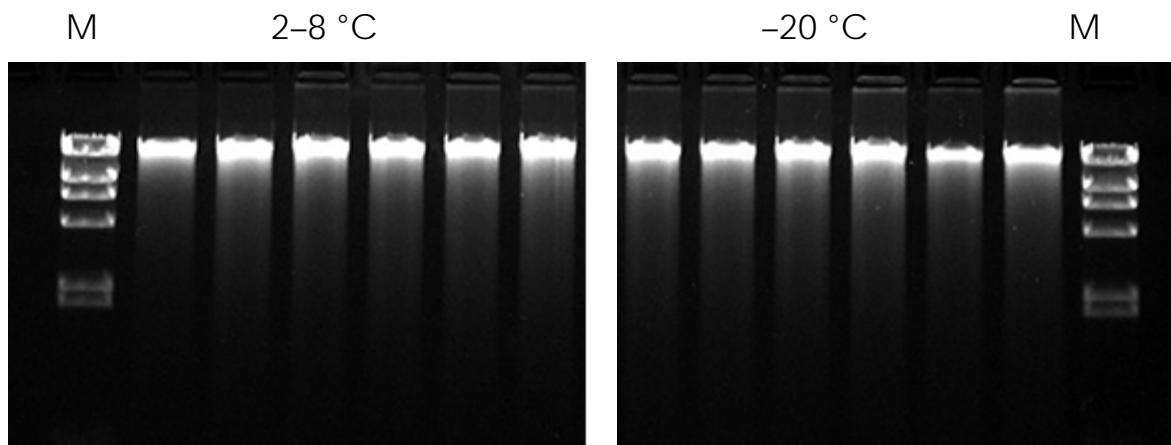
Taulukko 7. PCR:ssä käytetyn eluotilavuuden ja eluaatin määrän vaikutukset PCR:n suorituskykyyn

Eluaattitilavuus	Eluaattitilavuus / 50 µl PCR*		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100%	100%	100%
100 µl	100%	100%	97%
200 µl	100%	100%	100%

\* Arvot osoittavat PCR:n osumatarkkuudet ja edustavat 48 näytteen keskiarvoa.

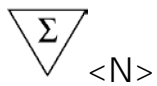
### Eluaattivakaus

QIAamp DNA Blood Mini Kit -sarjalla luotujen eluaattien varastointitesteissä osoitettiin yleistä laboratoriokäyttöön tarkoitettua identtistä tekniikkaa käyttävän sarjan avulla, että QIAamp Mini Spin Column -putkista eluoitu DNA puskurissa AE oli vakaata 8 vuotta, kun sitä säilytettiin joko 5 °C:ssa tai -20 °C:ssa (kuva 6). QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjalla saatujen eluaattien pitkäkestoiset stabiliteettitutkimukset ovat kuitenkin käynnissä.



Kuva 6. QIAamp Mini spin column -putkien avulla eristetyn ja puhdistetun DNA:n pitkäkestoinen stabiliteetti. DNA puhdistettiin QIAamp DNA Blood Mini Kit -sarjalla, eluottiin 200 µl:aan AE-puskuria ja varastoitettiin joko 2-8 °C:ssa tai -20 °C:ssa 8 vuoden ajan. DNA-näytteet analysoitiin etidumbromidivärjätystä agarosigeelistä. M: merkintäaine.

## Merkinnät



Sisältää reagensseja, jotka riittävät <N> näytteen valmisteluun



Viimeinen käyttöpäivämäärä



Diagnostinen in vitro -lääkintälaite



Vastaanotettaessa



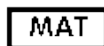
Avattava vastaanotettaessa; säilytettävä QIAamp Mini spin column -putkissa 2–8 °C:ssa



Tuotenumero



Eränumero



Materiaalinumero



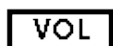
Komponentit



Sisältö



Numero



Määrä



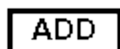
Lämpötilarajoitus



Valmistaja






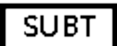



Kirjoita päivämäärä etanolin lisäämisen jälkeen



Lisätty



Kylmäkuivattu

	Käyttövalmiiksi valmistettu seuraavassa
	Etanoli
	Guanidiinihydrokloridi
	Subtilisiini
	Seurauksena
	Katso käyttöohjeet
	Tärkeä ilmoitus

## Lähdeviitteet

QIAGEN ylläpitää laajaa ja päivitettyä verkkotietokantaa QIAGEN-tuotteita koskevista tieteellisistä julkaisuista. Mittavien hakumahdollisuuksien avulla löydät tarvitsemasi artikkelit joko yksinkertaisella hakusanahauulla tai määrittelemällä sovellukset, tutkimusalueen, otsikon jne.

Luettelo kaikista kirjallisuusviitteistä on QIAGENin viitetietokannassa osoitteessa [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp). Voit myös tilata sen QIAGENin teknisestä palvelupisteestä tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

## Yhteystiedot

QIAGEN-yhtiön tarjoama tekninen tuki on huippulaatuista ja helposti saatavilla. Teknisen palvelun osastoillamme on kokeneita asiantuntijoita, joilla on laaja teoreettinen ja käytännöllinen näyte- ja testiteknologiaosaaminen ja jotka hallitsevat QIAGEN-tuotteiden käytön. Jos sinulla on kysyttävää QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjasta tai QIAGENin tuotteista yleisesti, tai jos niiden käytössä ilmenee ongelmia, ota yhteys meihin.

QIAGENin asiakkaiden antama tieto tuotteiden haastavasta tai erikoistuneesta käytöstä on yhtiölle merkittävää. Tieto on hyödyllistä sekä QIAGENin muille asiantuntijoille että tutkijoille. Otathan siis meihin yhteyttä, jos sinulla on ehdotuksia tuotteiden suorituskykyyn tai uusiin käyttökohteisiin tai tekniikoihin liittyen.

Teknisiä ohjeita ja lisätietoja löytyy teknisestä tukikeskuksesta osoitteessa [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support). Voit myös ottaa yhteyttä QIAGENin teknisen palvelun osastoon tai paikalliseen jälleenmyyjään (katso yhteystiedot takakannesta tai osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Saksa

## Tilaustiedot

Tuote	Sisältö	Tuotenumero
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	50:een DNA:n valmistelukertaan: QIAamp Mini spin column -putket, VacConnector-liitimet, QIAGEN Protease -proteaasi, reagenssit, puskurit ja keräysputket	61104
Lisävarusteet		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	Tyhjiöputkisto 1–24 spin column -putken käsittelyyn: QIAvac 24 Plus -tyhjiöputkisto, Luer-tulpat, pikaliitännät	19413
Vacuum Pump*	Yleinen tyhjiöpumppu	84020

Voimassa olevat lisenssiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat löytyvät osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä huollosta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

\* Käytettäväksi tyhjiöprotokollien kanssa.



Tavaramerkit: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, artus®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); ABI PRISM®, BigDye™ (Life Technologies Corporation); BD™, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One); Dynal®, AllSet™ (Dynal Biotech); Eppendorf® (Eppendorf AG); LightCycler® (Roche Group); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.

Rajoitettu lisenssisopimus QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit -sarjasta

Tämän tuotteen käyttö tarkoittaa ostajan tai käyttäjän suostumusta noudattaa seuraavia ehtoja:

1. Tuotetta saa käyttää ainoastaan tuotteen mukana toimitettujen asiakirjojen ja tämän käyttöoppaan ohjeiden mukaan, ja sen kanssa saa käyttää vain sarjan sisältämiä komponentteja. QIAGEN ei myönnä lisenssiä mihinkään aineettomaan omaisuuteensa, eikä tämän sarjan oheisia komponentteja saa käyttää tai liittää muihin komponentteihin, jotka eivät sisälly tähän sarjaan, kuten tuotteen mukana toimitetuissa asiakirjoissa, tässä käyttöoppaassa ja lisämateriaalissa mainitaan. Ne ovat saatavilla osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Osa lisämateriaalista on QIAGEN-käyttäjien toisille QIAGEN-käyttäjille laatimaa. QIAGEN ei ole testannut tai tarkistanut kyseistä materiaalia. QIAGEN ei anna takuuta lisämateriaalille eikä takaa, ettei se loukkaa kolmansien osapuolten oikeuksia.
2. Muutoin kuin nimenomaisesti ilmoitettujen käyttöoikeuksien osalta QIAGEN ei takaa, että tämä tarvikesarja ja/tai sen käyttäjät eivät loukkaa kolmansien osapuolten oikeuksia.
3. Tämä sarja ja sen komponentit on lisensoitu kertakäyttöön, eikä niitä saa käyttää uudelleen, kunnostaa tai myydä eteenpäin.
4. QIAGEN kiistää nimenomaisesti kaikki käyttöoikeudet, suorat tai epäsuorat, joita ei ole tässä nimenomaisesti ilmoitettu.
5. Sarjan ostaja ja käyttäjä suostuvat siihen, että he eivät ryhdy tai anna kenellekään toiselle lupaa ryhtyä toimenpiteisiin, jotka saattavat aiheuttaa tai edistää mitään yllä kiellettyä toimintaa. QIAGEN voi kääntyä minkä tahansa tuomioistuimen puoleen pannakseen täytäntöön tämän rajoitetun lisenssisopimuksen kiellot ja saada hyvityksen kaikista valmistelu- ja oikeuskuluista (asianajopalkkiot mukaan lukien), kun tarkoituksena on tämän rajoitetun lisenssisopimuksen tai sarjaan ja/tai sen komponentteihin liittyvien immateriaalioikeuksien täytäntöönpano.

Katso päivitetty käyttöoikeusehdot osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2012 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

---

[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

Australia ■ [techservice-au@qiagen.com](mailto:techservice-au@qiagen.com)

Austria ■ [techservice-at@qiagen.com](mailto:techservice-at@qiagen.com)

Belgium ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

Brazil ■ [suportetecnico.brasil@qiagen.com](mailto:suportetecnico.brasil@qiagen.com)

China ■ [techservice-cn@qiagen.com](mailto:techservice-cn@qiagen.com)

Denmark ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

Finland ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

France ■ [techservice-fr@qiagen.com](mailto:techservice-fr@qiagen.com)

Germany ■ [techservice-de@qiagen.com](mailto:techservice-de@qiagen.com)

Hong Kong ■ [techservice-hk@qiagen.com](mailto:techservice-hk@qiagen.com)

India ■ [techservice-india@qiagen.com](mailto:techservice-india@qiagen.com)

Ireland ■ [techservice-uk@qiagen.com](mailto:techservice-uk@qiagen.com)

Italy ■ [techservice-it@qiagen.com](mailto:techservice-it@qiagen.com)

Japan ■ [techservice-jp@qiagen.com](mailto:techservice-jp@qiagen.com)

Korea (South) ■ [techservice-kr@qiagen.com](mailto:techservice-kr@qiagen.com)

Luxembourg ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

Mexico ■ [techservice-mx@qiagen.com](mailto:techservice-mx@qiagen.com)

The Netherlands ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

Norway ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

Singapore ■ [techservice-sg@qiagen.com](mailto:techservice-sg@qiagen.com)

Sweden ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

Switzerland ■ [techservice-ch@qiagen.com](mailto:techservice-ch@qiagen.com)

UK ■ [techservice-uk@qiagen.com](mailto:techservice-uk@qiagen.com)

