

QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit El Kitabı



Versiyon 2



IVD In vitro tanı amaçlı kullanım içindir

REF 61104

HB 1071108TR

 QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

Tel: +49-2103-29-0

R2 **MAT** 1071108TR



QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN her biyolojik örneğin içeriğinin saptanması ve izolasyonunu mümkün kılacak şekilde yenilikçi örnek ve test teknolojilerinin önde gelen sağlayıcısıdır. Gelişmiş ve yüksek kalitede ürünlerimiz ve hizmetlerimiz örnekten sonuca kadar başarıyı garanti eder.

QIAGEN şunlarda standartları belirler:

- DNA, RNA ve protein saflaştırma
- Nükleik asit ve protein testleri
- mikroRNA araştırması ve RNAi
- Örnek ve test teknolojilerinin otomasyonu

Misyonumuz, üstün başarı ve önemli buluşlar elde etmenizi sağlamaktır. Daha fazla bilgi için, www.qiagen.com adresini ziyaret edin.

İçindekiler

Kullanım Amacı	4
Özet ve Açıklama	4
Kan hücrelerinin parçalanması	5
Genomik DNA'nın QIAamp Mini dönel kolon membranına bağlanması	5
Otomatik saflaştırma	6
Sağlanan Materyaller	8
Kit içeriği	8
Gerekli olan ancak sağlanmayan malzemeler	10
Güvenlik Bilgileri	11
Reaktif Saklama ve Kullanma	13
Numune Kullanımı ve Saklama	13
Önemli Notlar	15
Protokole başlamadan önce önemli noktalar	15
Reaktifleri ve tamponları hazırlama	15
QIAamp Mini dönel kolonlarının kullanılması	16
Genomik DNA'yı ayrıştırma	17
Genomik DNA'nın verimi ve kalitesi	17
QIAvac 24 Plus vakum sisteminin kurulumu	17
Protokol: Genomik DNA'nın kan örneklerin, vakum sistemi kullanılarak izolasyonu ve saflaştırılması	20
Protokol: Genomik DNA'nın kan örneklerin, mikrosantrifüj kullanılarak izolasyonu ve saflaştırılması	24
Kalite Kontrol	27
Performans Özellikleri	27
Aşağı akış testlerinde performans	28
Semboller	33
Referanslar	34
İletişim Bilgileri	35
Sipariş Bilgileri	36

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.

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

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

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.

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® üzerinde tamamen otomatik hale getirilebilir (bkz: sayfa 6).

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, daha sonra kullanılmak üzere -25°C ila -15°C sıcaklıkta saklanabilir.

Prosedür Prensipleri

Her QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürü 4 adımdan oluşur:

- Kan örneğinde hücrelerin parçalanması
- Hücre lizatında bulunan genomik DNA'nın, QIAamp Mini dönel kolon 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 döndürme prosedürü ve santrifüj ile vakum sistemi gerektiren vakumlama prosedürü (bkz. akış şeması, sayfa 7).

Kan hücrelerinin parçalanması

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

Genomik DNA'nın QIAamp Mini dönel kolon membranına bağlanması

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

Otomatik saflaştırma

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak DNA saflaştırma işlemi, QIAcube üzerinde tamamen otomatik hale getirilebilir. Yenilikçi QIAcube'da, QIAGEN dönel kolonlarının işlenmesi amacıyla gelişmiş teknoloji kullanılır ve böylece, otomatik ve düşük çıktılı örnek hazırlama işleminin laboratuvarınızın iş akışına kusursuz bir şekilde entegre olması sağlanır. QIAcube kullanılarak örnek hazırlama işleminde, manuel prosedür ile aynı adımlar (parçalama, bağlama, yıkama ve ayırıştırma) izlenir. Böylece, yüksek kaliteli DNA saflaştırması için QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanmaya devam edebilirsiniz.

Otomatik prosedür hakkında daha fazla bilgi için www.qiagen.com/MyQIAcube adresinde bulunan ilgili protokol sayfasına bakın. Güncel protokol sayfaları ücretsiz olarak indirilebilir veya QIAGEN'in Teknik Servis Departmanı ile iletişime geçilerek edinilebilir (bkz. sayfa 35).

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit'i QIAcube cihazında otomatik hale getirirken 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.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Döndürme ve Vakumlama Prosedürleri

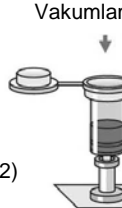
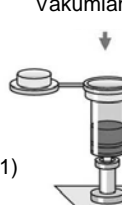
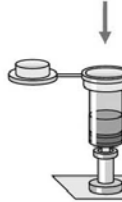
QIAamp Döndürme Prosedürü

Örnek



QIAamp Vakumlama Prosedürü

Örnek



Parçalama

Bağlama

Vakumlama

Yıkama
(Tampon AW1)

Vakumlama

Yıkama
(Tampon AW2)

Vakumlama

Elüsyon

Saf genomik veya viral DNA

Başlamadan önce protokolleri (20 ve 24 no.lu sayfalar) dikkatli bir şekilde okuyun

LT içine, 20 µl QP, 200 µl örnek ve 200 µl AL ekleyin

15 saniye vorteksle karıştırın

56°C'de (± 1°C) 10 dakika (± 1 dakika) inkübe edin

200 µl etanol ekleyin

15 saniye vorteksle karıştırın

Lizati QIAamp Mini dönel kolonuna aktarın

Döndürme Prosedürü: 6000 x g hızda 1 dakika santrifüjleyin

Vakumlama Prosedürü: vakum uygulayın

Döndürme Prosedürü: QIAamp Mini dönel kolonunu yeni WT içine yerleştirin, 500 µl AW1 ekleyin ve 6000 x g hızda 1 dakika santrifüjleyin

Vakumlama Prosedürü: 750 µl AW1 ekleyin ve vakum uygulayın

Döndürme Prosedürü: QIAamp Mini dönel kolonunu yeni WT içine yerleştirin, 500 µl AW2 ekleyin ve 1 dakika boyunca tam hızda (yaklaşık 20.000 x g veya 14.000 rpm) santrifüjleyin

Vakumlama Prosedürü: 750 µl AW2 ekleyin ve vakum uygulayın

QIAamp Mini dönel kolonu WT içine yerleştirin

3 dakika boyunca tam hızda (yaklaşık 20.000 x g veya 14.000 rpm) santrifüjleyin

QIAamp Mini dönel kolonu ET içine yerleştirin



50-200 µl AE ekleyin ve 1 dakika inkübe edin

6000 x g hızda 1 dakika santrifüjleyin

Sağlanan Materyaller

Kit içeriği

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit		
Katalog no.		61104
Prep sayısı		50*
QIAamp Mini Spin	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (WT) (2 ml) (Yıkama Tüpleri (WT) (2 ml) ile QIAamp Mini Dönel Kolonlar)	COL 50
ET	Elution Tubes (1.5 ml) (Elüsyon Tüpleri (1,5 ml))	ELU TUBE 50
VC	VacConnectors	VAC CON 50
LT	Lysis Tubes (1.5 ml) (Lizis Tüpleri (1,5 ml))	LYS TUBE 50
WT	Wash Tubes (2 ml) (Yıkama Tüpleri (2 ml))	WASH TUBE 3 x 50
AL	Lysis Buffer (Lizis Tamponu) [†]	LYS BUF 12 ml
AW1	Wash Buffer 1 [†] (concentrate) (Yıkama Tamponu 1 (konsantre))	WASH BUF 1 CONC 19 ml
AW2	Wash Buffer 2 [†] (concentrate) (Yıkama Tamponu 2 (konsantre))	WASH BUF 2 CONC 13 ml
AE	Elution Buffer (Elüsyon Tamponu) [‡]	ELU BUF 25 ml
PS	Protease Solvent (Proteaz Solvent) [‡]	QPROT SOLV 2 ml
QP	QIAGEN Protease (QIAGEN Proteaz) [§]	QPROT 1 Şişe

CD		1
El Kitabı		1

* QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit'i QIAcube 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. sayfa 12.

‡ Koruyucu madde olarak sodyum azit içerir.

§ Resüspansiyon hacmi 1,2 ml. Bkz. "QIAGEN Proteazı hazırlama", sayfa 15.

Gerekli olan ancak sağlanmayan malzemeler

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için ürün tedarikçisinden elde edilebilecek uygun malzeme güvenlik veri sayfalarına (material safety data sheets, MSDS'ler) başvurun.

Döndürme ve vakumlama prosedürleri için

- Etanol (%96 - %100)
- Pipetler* ve pipet uçları (çapraz kontaminasyonu önlemek için aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanımını şiddetle öneririz)
- Tek kullanımlık eldiven
- Örnek lizisi için 56°C'de ısıtma bloğu* (1,5 ml'lik mikro test tüpleri† için termobloklu Eppendorf® Thermomixer comfort öneririz)
- Mikrosantrifüj*
- Dereceli silindir (50 ml)
- Vorteksleyici

Yalnızca vakumlama prosedürü için

- QIAvac 24 Plus vacuum system (QIAvac 24 Plus, kat. no. 19413, QIAvac Connecting System, kat. no. 19419 ve Vacuum Pump, kat. no. 84020) veya muadili olan genel bir laboratuvar vakum sistemi

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

† Bu liste, tedarikçilerin tam bir listesi değildir ve birçok biyolojik malzeme satıcısını içermez.

Güvenlik Bilgileri

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun malzeme güvenliği veri sayfalarına (MSDS'ler) başvurun. Bunlar, çevrimiçi olarak pratik ve kompakt PDF biçiminde www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx adresinde yer almaktadır ve burada, her QIAGEN kiti ve kit bileşeni için MSDS'yi bulabilir, okuyabilir ve yazdırabilirsiniz.

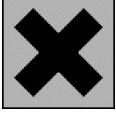
DİKKAT: Örnek hazırlama atık maddesine doğrudan çamaşır suyu veya asit solüsyonları KATMAYIN.

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 hipoklorürle 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 atılmalıdır.

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

Lizis Tamponu (AL) ve Yıkama Tamponu 1 (AW1)



Guanidin hidroklorür içerir: zararlı, tahriş edici. Risk ve güvenlik ifadeleri:* R22-36/38, S13-26-36-46.

QIAGEN Proteaz (QP)



Subtilizin içerir: duyarlılaştırıcı, tahriş edici. Risk ve güvenlik ifadeleri:* R37/38-41-42, S22-24-26-36/37/39-46.

24 saat acil durum bilgileri

İngilizce, Fransızca ve Almanca dillerinde acil tıbbi bilgiler günde 24 saat şuradan elde edilebilir:

Poison Information Center Mainz, Almanya

Tel: +49-6131-19240

* R22: Yutulursa zararlıdır; R36/38: Gözleri ve cildi tahriş edici; R37/38 Solunum sistemini ve cildi tahriş edici; R41: Gözlerde ciddi hasar riski; R42: Solunması duyarlılaşmaya neden olabilir; S13: Yiyecekler, içecekler ve hayvan besleme ürünlerinden uzak tutun; S22: Tozunu solumayın; S24: Ciltle temasından kaçınınız; S26: Gözlerle temas durumunda hemen bol suyla yıkayın ve tıbbi yardım isteyin; S36: Uygun koruyucu giysi giyin; S36/37/39: Uygun koruyucu giysi giyin; S46: Yutulursa hemen tıbbi yardım isteyin ve bu kap veya etiketi gösterin.

Reaktifi Saklama ve Kullanma

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

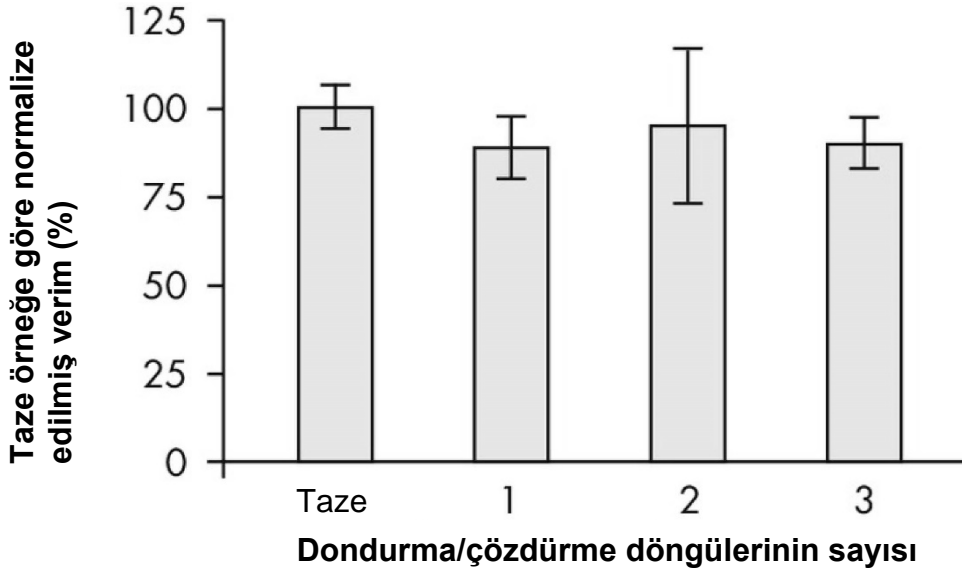
Tüm tamponları, kit kutusunda yer alan son kullanma tarihine kadar oda sıcaklığında (15-25°C) saklanabilir.

Liyofilize QIAGEN Proteaz (QP), performans etkilenmeden kitin son kullanma tarihine kadar oda sıcaklığında (15-25°C) saklanabilir. Yeniden hazırlanan QIAGEN Proteaz, en geç kitin son kullanma tarihine kadar olmak üzere, 2-8°C'de saklandığında 1 yıla kadar stabildir.

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

Numune Kullanımı ve Saklama

Dondurulmuş örneklerin çözündürülmesi sırasında oluşan kriyopresipitatlar, QIAamp Mini dönel kolon membranını tıkar. Kriyopresipitatlar görmeniz durumunda örnek aspirasyonu sırasında bunları aspire etmekten kaçınınız. Kan örneklerini dondurmanın ve çözdürenin QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak yapılan DNA saflaştırma üzerindeki etkileri belirlenmiştir (bkz. Şekil 2.).



Şekil 2. Kan örneklerini dondurma ve çözdürenin etkileri. EDTA ile işlenmiş kan, en fazla 3 kez dondurulup çözündürülür ve ardından, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak DNA saflaştırmasına tabi tutulur. Hesaplanan DNA verimleri, taze örnekten alınan verime (%100) göre normalize edilmiştir. Grafik üzerindeki her bir çubuk, 32 tekrardan elde edilen sonuçları (ortalama ± standart sapma) temsil eder.

QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürlerinde saflaştırılan DNA'nın miktarı, her bir kan örneğinin akyuvar içeriğine bağlıdır. DNA, döndürme veya vakumlama prosedürü kullanılarak, sağlıklı donörlerden alınan 200 µl'lik kan örneklerinden saflaştırılır. QIAamp DSP DNA Blood Mini prosedürleri için kan örnekleri toplama amacıyla çeşitli farklı primer tüpler ve antikoagülanlar kullanılabilir (Tablo 1).

Tablo 1. Çeşitli primer tüpler ve koagülanlar kullanılarak toplanan kan örneklerinden elde edilen DNA'nın ortalama bağıl verimleri

Primer tüp	Üretici	Kat. no.	Nominal hacim	Ortalama verim*
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

Genomik DNA, sağlıklı donörlerden alınan 200 µl'lik kan örneklerinden ($4,0 \times 10^6$ hücre/ml ila $9,0 \times 10^6$ hücre/ml) saflaştırılmıştır.

* Her bir primer tüp için ortalama verim, 11 adet üçerli örnekten belirlenmiştir.

Kalıntı kontaminanları giderme

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

Saf genomik DNA'yı ayırıştırma

Genomik DNA, QIAamp Mini Spin Column membranından, 50-200 µl Elüsyon Tamponu (AE) kullanılarak ayırıştırılır. Ayırıştırılan DNA, birçok çeşitte in vitro tanı amaçlı aşağı akışlı testler de dahil olmak üzere, farklı aşağı akışlı testlerde kullanıma hazırdır.

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 11) başvurun. Hasarlı kit bileşenlerinin kullanımı zayıf 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.
- Tüm santrifügasyon adımları oda sıcaklığında (15-25°C) gerçekleştirilir.
- Her zaman tek kullanımlık eldiven kullanın ve eldivenin örnek materyal ile kontamine olmadığını kontrol edin. Kontamine olması halinde eldiveni atın.
- Çapraz kontaminasyonu en aza indirmek için tek seferde yalnız bir tüp açın.
- Başka kitlelere 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 Proteazı hazırlama

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



QIAGEN Proteazı (QP) doğrudan Lizis Tamponuna (AL) eklemeyin.

■ Yıkama Tamponu 1'yi hazırlama

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

i Prosedüre başlamadan önce mutlaka, yeniden hazırlanmış 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 ila 100) ekleyin. Çözülmüş Yıkama Tamponu 2'i (AW2) oda sıcaklığında (15 ila 25°C) saklayın.

i Prosedüre başlamadan önce mutlaka, yeniden hazırlanmış Yıkama Tamponu 2'i (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.

i Elüsyon Tamponu (AE), 260 nm'de absorbans gösteren koruyucu sodyum azit 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 azit 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. Seyreltme işlemleri için taze ve distile su kullanın.

QIAamp Mini dönel kolonlarının kullanılması

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

- Örneği veya çözeltiyi QIAamp Mini spin kolonuna dikkatli bir şekilde uygulayın. Örneği, kolon kenarını ıslatmadan QIAamp Mini dönel kolonuna pipetleyin.
- Sıvı transferleri arasında daima pipet uçlarını değiştirin. Aerosol bariyerli pipet uçlarının kullanılması önerilir.
- QIAamp Mini dönel kolon membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.
- Tüm puls vorteksleme adımlarından sonra, kapakların iç kısmındaki damlaları gidermek için mikrosantrifüj tüplerini kısa bir süre santrifüjleyin.

- Her defasında yalnızca bir adet QIAamp Mini dönel kolonu açın ve aerosol oluşturmaktan kaçının.
- Tüm işlem boyunca eldiven kullanın. Eldivenler ile örneğin teması durumunda eldivenleri hemen değiştirin.

Genomik DNA'yı ayrıştırma

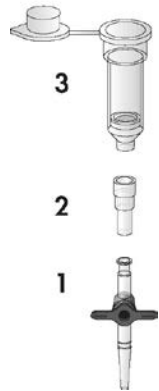
QIAamp Mini dönel kolonundan ayrıştırılan DNA'nın hacmi, kolona uygulanan Elüsyon Tamponunun (AE) hacminden 20 µl'ye kadar daha az olabilir. Kazanılan elüatın hacmi, örneğin niteliğine bağlıdır. Elüsyon Tamponu (AE), kolona uygulanmadan önce oda sıcaklığına (15-25°C) dengelenmelidir. Ayrıştırılan DNA, elüsyon tüplerinde (ET) toplanır. DNA 4 haftaya kadar saklanacaksa 2-8°C'de saklanmasını öneririz. Uzun süreli saklama için -20°C'de saklanmasını öneririz.

Genomik DNA'nın verimi ve kalitesi

İzole edilen genomik DNA'nın verimi ve kalitesi, moleküler tanı amaçlı birçok türde aşağı akış saptama prosedürüne uygundur. Tanı amaçlı testler, üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmelidir.

QIAvac 24 Plus vakum sisteminin kurulumu

QIAamp Mini dönel kolonun, VacConnector'ın (VC), ve VacValve'in kurulumunu doğru yaptığınızdan emin olun (bkz. Şekil 3.).



Şekil 3. Örneklerin vakum işlemleri için QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit bileşenlerinin bir araya getirilmesi.

1. VacValve (vakum sistemi ile birlikte verilir)
2. VacConnector (VC)
3. QIAamp Mini dönel kolon

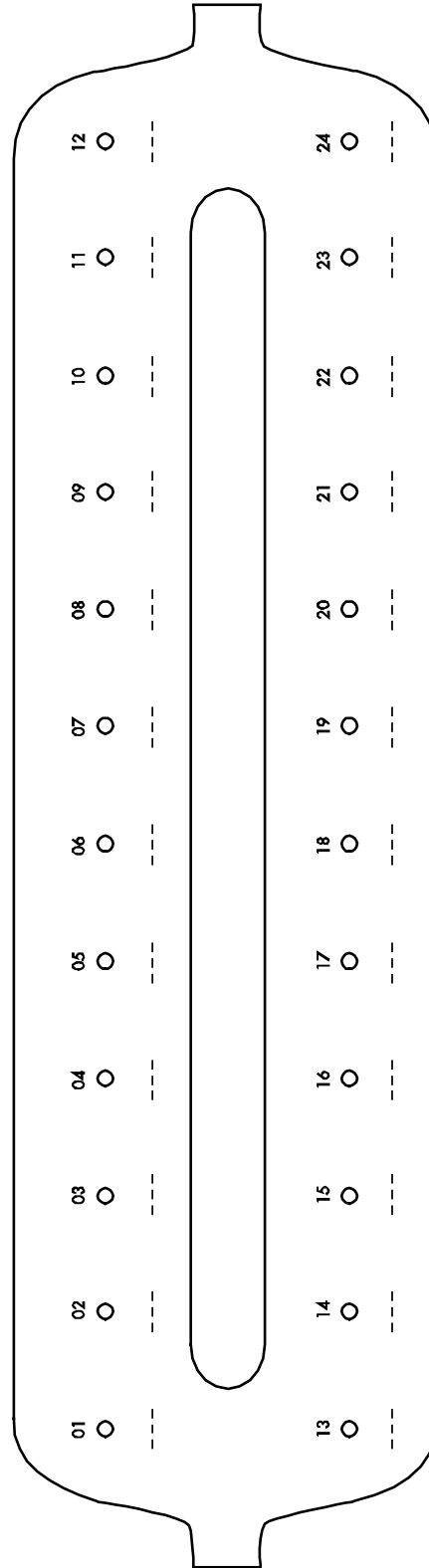
Vakumlama prosedürünü QIAvac 24 Plus vakum sistemiyle gerçekleştirmeniz durumunda örneklerin birbirine karışmasını önlemek adına lizis tüplerinin (LT), elüsyon tüplerinin (ET) ve QIAamp Mini dönel kolonların, Şekil 4'te yer alan (sonraki sayfaya bakın) şemaya göre etiketlenmesini öneririz. Bu şeklin

fotokopisi alınabilir ve örnek adlarıyla etiketlenebilir. Farklı vakum sistemleri kullanılması veya döndürme prosedürünün kullanılması durumunda benzer bir şema kullanılmasını öneririz.

Tarih: _____

Operatör: _____

Çalışma ID: _____



Şekil 4. Lizis tüpleri (LT), elüsyon tüpleri (ET) ve QIAvac 24 Plus vakum sisteminde kullanıma yönelik QIAamp Mini dönel kolonlar için etiketleme şeması.

Protokol: Genomik DNA'nın kan örneklerin, 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 noktalar

- 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 sıcaklığıyla dengeye getirin (15-25°C) ve iyi karışmış olduklarından emin olun.
- Parçalama Tamponu içinde (AL) çökelti oluştuysa, 56°C'de inkübe ederek çözünüz.
- Yıkama Tamponu 1 (AW1), Yıkama Tamponu 2 (AW2), ve QIAGEN Proteazın (QP), 15 ve 16 sayfalarında yer alan "Reaktifleri ve tamponları hazırlama" talimatları doğrultusunda hazırlanmış olduğundan emin olun.
- Elüsyon Tamponunu (AE), adım 14'te kullanılmak üzere oda sıcaklığına (15-25°C) dengeleyin.
- Adım 4'te kullanılmak üzere bir ısıtma bloğunu 56°C'ye getirin.
- Çapraz kontaminasyonu en aza indirmek için vakum sisteminin her bir luer adaptörüne birer VacConnector (VC) yerleştirin.
- QIAGEN'deki kalite kontrol prosedürleri her bir kit lotu için işlevsel kit piyasaya sürüm testi barındırır. Bu nedenle, farklı kit lotlarından reaktifleri karıştırmayın ve farklı reaktif lotlarından ayrı reaktifleri bir araya getirmeyin.
- Vakum sisteminin atık şişesinin boş olduğundan ve tüm bağlantılarından doğru yapıldığından emin olun.
- Vakum sisteminin çalıştırılmasına, özellikle de bakıma ilişkin ayrıntılar için ürünle verilen el kitabına başvurun.

Prosedür

1. **20 µl QIAGEN Proteazı (QP) bir lizis tüpü (LT) içine pipetleyin.**

i Yeniden hazırlanmış 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 15 saniye karıştırın.**

Verimli lizisi sağlamak adına örnek ve Lizis Tamponunun homojen bir çözelti verecek şekilde iyice karışmaları son derece önemlidir.

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

i QIAGEN Proteazı (QP) doğrudan Lizis Tamponuna (AL) eklemeyin.

4. **56°C'de (±1°C) 10 dakika (±1 dakika) inkübe edin.**
5. **Kapağın içindeki damlaları gidermek için lizis tüpünü (LT) tam hızda ≥5 saniye santrifüjleyin.**
6. **Lizis tüpüne (LT) 200 µl etanol (%96-%100) ekleyip kapağı kapatın ve puls vorteksleme ile ≥15 saniye boyunca iyice karıştırın.**
7. **Kapağın içindeki damlaları gidermek için lizis tüpünü (LT) tam hızda ≥5 saniye santrifüjleyin.**
8. **QIAamp Mini dönel kolonu, 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 dönel kolonun 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 dönel kolonuna kenarını ıslatmadan dikkatlice uygulayın. QIAamp Mini dönel kolon 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 dönel kolondan 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 sağlanması için vakum manifoldunun vidalı kapaklı valfini kullanın.

i Aynı anda birçok QIAamp Mini dönel kolon 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 dönel kolonu 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 dönel kolonu, başka bir temiz yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve sayfa 25 içinde yer alan protokolün 10. adımı ile devam edin.

i Lizat santrifüjleme sırasında hala membrandan geçmiyorsa sayfa 21 içinde yer alan adım 1'den başlayarak, örneği atıp izolasyon ve saflaştırmayı yeni örnek materyaliyle tekrarlayın.

11. QIAamp Mini dönel kolona, kenarını ıslatmadan 750 µl Yıkama Tamponu 1 (AW1) uygulayın. QIAamp Mini dönel kolon membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının. Kolon kapağını açık bırakın ve ana vakum valfini açın. Yıkama Tamponu 1 (AW1), QIAamp Mini dönel kolondan 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 dönel kolona, kenarını ıslatmadan 750 µl Yıkama Tamponu 2 (AW2) uygulayın. QIAamp Mini dönel kolon membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının. Kolon kapağını açık bırakın ve ana vakum valfini açın. Yıkama Tamponu 2 (AW2), QIAamp Mini dönel kolondan 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 dönel kolonun kapağını kapatın, vakum sisteminden ayırın ve VacConnector'ı atın (VC). QIAamp Mini dönel kolonu 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 santrifügasyon adımının atlanması, aşağı akış testinin inhibisyonuna yol açabilir.

- 14. QIAamp Mini dönel kolonunu temiz bir elüsyon tüpüne (ET) yerleştirin ve süzüntüyü içeren yıkama tüpünü (WT) atın.**
QIAamp Mini dönel kolon kapağını dikkatlice açın ve membranın ortasına 50 ila 200 µl Elüsyon Tamponu (AE) uygulayın. Kapağı kapatın ve oda sıcaklığında (15-25°C) 1 dakika boyunca inkübe edin. DNA'yı ayırtmak için 6000 x g (8000 rpm) hızda 1 dakika boyunca santrifüjleyin.



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

Protokol: Genomik DNA'nın kan örneklerin, mikrosantrifüj kullanılarak izolasyonu ve saflaştırılması

Genomik DNA'nın EDTA veya sitrat ile işlenmiş 200 µl'lik tam kan örneklerinden, mikrosantrifüj kullanılarak 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.

Başlamadan önce yapılacaklar

- Kan örneklerini oda sıcaklığıyla dengeye getirin (15-25°C) ve iyi karışmış olduklarından emin olun.
- Parçalama Tamponu içinde (AL) çökelti oluştuysa, 56°C'de inkübe ederek çözünüz.
- Yıkama Tamponu 1 (AW1), Yıkama Tamponu 2 (AW2), ve QIAGEN Proteazın (QP), 15 ve 16 sayfalarında yer alan "Reaktifleri ve tamponları hazırlama" talimatları doğrultusunda hazırlanmış olduğundan emin olun.
- Elüsyon Tamponunu (AE), adım 15'te kullanılmak üzere oda sıcaklığına (15-25°C) dengeleyin.
- Adım 4'te kullanılmak üzere bir ısıtma bloğunu 56°C'ye getirin.
- QIAGEN'deki kalite kontrol prosedürleri her bir kit lotu için işlevsel kit piyasaya sürüm testi barındırır. Bu nedenle, farklı kit lotlarından reaktifleri karıştırmayın ve farklı reaktif lotlarından ayrı reaktifleri bir araya getirmeyin.

Prosedür


1. 20 µl QIAGEN Proteazı (QP) bir lizis tüpü (LT) içine pipetleyin.

 Yeniden hazırlanmış 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 15 saniye karıştırın.

Verimli lizisin garanti edilmesi için örnek ve Lizis Tamponunun (AL) homojen bir çözelti verecek şekilde iyice karışmaları elzemdir.

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

i QIAGEN Proteazı (QP) doğrudan Lizis Tamponuna (AL) eklemeyin.

4. **56°C'de ($\pm 1^\circ\text{C}$) 10 dakika (± 1 dakika) inkübe edin.**
5. **Kapağın içindeki damlaları gidermek için lizis tüpünü (LT) tam hızda ≥ 5 saniye santrifüjleyin.**
6. **Lizis tüpüne (LT) 200 μl etanol (%96-%100) ekleyip kapağı kapatın ve puls vorteksleme ile ≥ 15 saniye boyunca iyice karıştırın.**
7. **Kapağın içindeki damlaları gidermek için lizis tüpünü (LT) tam hızda ≥ 5 saniye santrifüjleyin.**
8. **Adım 7'deki lizatın tamamını QIAamp Mini dönel kolonuna kenarını ıslatmadan dikkatlice uygulayın. QIAamp Mini dönel kolon membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.**

i Birden fazla örnek işliyorsanız bir seferde sadece bir lizis tüpü (LT) açın.

9. **QIAamp Mini dönel kolonunun kapağını kapatın ve yaklaşık 6000 x g'de 1 dakika boyunca santrifüjleyin. QIAamp Mini dönel kolonunu temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve süzüntüyü içeren tüpü atın.**

i 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.

i Lizat santrifüjleme sırasında hala membrandan geçmiyorsa sayfa 24 içinde yer alan adım 1'den başlayarak, örneği atıp izolasyon ve saflaştırmayı yeni örnek materyaliyle tekrarlayın.

10. **QIAamp Mini dönel kolonu dikkatlice açıp kenarı ıslatmadan 500 μl Yıkama Tamponu 1 (AW1) ekleyin. QIAamp Mini dönel kolon membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.**
11. **QIAamp Mini dönel kolonunun kapağını kapatın ve yaklaşık 6000 x g'de 1 dakika boyunca santrifüjleyin. QIAamp Mini dönel kolonunu temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve süzüntüyü içeren tüpü atın.**
12. **QIAamp Mini dönel kolonu dikkatlice açıp kenarı ıslatmadan 500 μl Yıkama Tamponu 2 (AW2) ekleyin. QIAamp Mini dönel kolon membranına pipet ucuyla dokunmaktan kaçının.**
13. **QIAamp Mini dönel kolonunun kapağını kapatın ve tam hızda (yaklaşık 20.000 x g veya 14.000 rpm) 1 dakika boyunca santrifüjleyin. QIAamp Mini dönel kolonunu temiz bir yıkama tüpüne (WT) yerleştirin ve süzüntüyü içeren tüpü atın.**
14. **Membranı tamamen kurutmak için tam hızda (yaklaşık 20.000 x g veya 14.000 rpm) 3 dakika boyunca santrifüjleyin.**



Kuru santrifügasyon adımının atlanması, aşağı akış testinin inhibisyonuna yol açabilir.

- 15. QIAamp Mini dönel kolonunu temiz bir elüsyon tüpüne (ET) yerleştirin ve süzüntüyü içeren yıkama tüpünü (WT) atın. QIAamp Mini dönel kolon kapağını dikkatlice açın ve membranın ortasına 50 ila 200 µl Elüsyon Tamponu (AE) uygulayın. Kapağı kapatın ve oda sıcaklığında (15-25°C) 1 dakika boyunca inkübe edin. DNA elüsyonunu sağlamak için yaklaşık 6000 × g'de (8000 rpm) 1 dakika boyunca santrifüjleyin.**

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.

Laboratuvarlarında QIAGEN performans çalışmalarının kapsamında olmadan kullanılan herhangi bir işlem için sistem performansını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

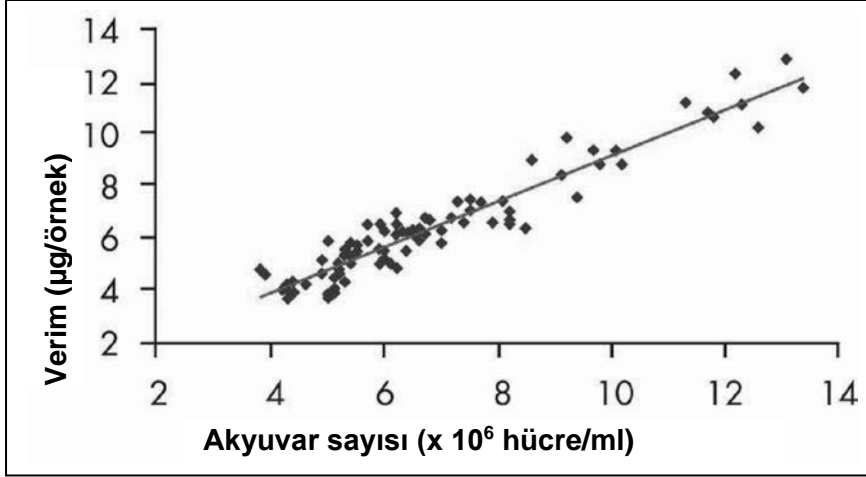
Diagnostik sonuçlar üzerine negatif bir etki riskini minimuma indirmek üzere aşağı yönde uygulamalar için yeterli kontroller kullanılmalıdır. Daha ileri doğrulama için International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (ICH) (Teknik Gereklilikler Uluslararası Uyumlaştırma Konferansı) *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures (Analitik İşlemlerin 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.

Performans Özellikleri

Saflaştırılmış DNA'nın verimi

QIAamp DSP DNA Blood Mini vakumlama prosedürü kullanılarak elde edilen DNA veriminin lineer aralığı, $3,8 \times 10^6$ - $1,34 \times 10^7$ hücre/ml aralığında akyuvar sayısına sahip sağlıklı donörlerden alınan kan için belirlenmiştir (bkz. Şekil 5, sayfa 25).



Şekil 5. 200 µl elüsyon hacmiyle QIAamp DSP DNA Blood Mini vakum prosedürü kullanılarak elde edilen DNA veriminin lineer aralığı. Sağlıklı donörlerin akyuvar sayıları belirlenmiştir ve $3,8 \times 10^6$ - $1,34 \times 10^7$ hücre/ml aralığında olduğu tespit edilmiştir. DNA, 200 µl elüsyon hacmiyle QIAamp DSP DNA Blood Mini vakumlama prosedürü kullanılarak kan örneklerinden saflaştırılmıştır. Seksen yedi adet üçlü örnek işlenmiştir.

Aşağı akış testlerinde performans

Ayrıştırılan genomik DNA, birçok çeşitte in vitro tanı amaçlı aşağı akışlı testler de dahil olmak üzere, farklı aşağı akışlı testlerde kullanıma hazırdır (Tablo 2-6). PCR'de kullanılan elüsyon hacminin ve elüat hacminin PCR performansı üzerindeki etkisi belirlenmiştir (bkz. Tablo 7).

Tablo 2. Dynal® A//Set™ SSP Assays HLA-A "Düşük Çözünürlük", HLA-B "Düşük Çözünürlük", DR "Düşük Çözünürlük" ve DQ "Düşük Çözünürlük" kullanılarak HLA tiplendirme

HLA lokus A		HLA lokus B		HLA lokus DR		HLA lokus DQ	
Genotip	No.	Genotip	No.	Genotip	No.	Genotip	No.
A2/A3	2	B51, B51/ B13 veya B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 veya DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 veya 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	Diğer	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Diğer	0			DR15	1	Diğer	0
				DR1/DR7	1		
				Diğer	0		

Ayrı donörlerden tam kan alınmış ve genomik DNA, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak 200 µl tam kandan saflaştırılmıştır. Alleller, Dynal A//Set™ SSP Assays (Dynal Biotech) kullanılarak, belirli sayıda kişinin belirtilen lokuslarında belirlenmiştir. **No.:** kişi sayısı.

Tablo 3. LightCycler® Factor V Leiden Mutation Detection Kit kullanılarak Factor V Leiden (FV) genotiplemeesi

Genotip	Numara
Doğal Tip	17
FV G16191 A heterozigot	13
FV G16191 A homozigot	0

30 ayrı donörden tam kan alınmış ve genomik DNA, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak 200 µl tam kandan saflaştırılmıştır. FV G1691 A lokusun allelik durumu, LightCycler Factor V Leiden Mutation Detection Kit (Roche Group) kullanılarak belirlenmiştir.

Tablo 4. Son nokta PCR ve Pyrosequencing PSQ 96MA üzerinde PSQ-96 SNP-Reagent Kit ile yapılan Pyrosequencing® analizi kullanılarak Factor V Leiden (FV) genotiplemeesi

Genotip	Numara
Doğal Tip	17
FV G16191 A heterozigot	13
FV G16191 A homozigot	0

30 ayrı donörden tam kan alınmış ve genomik DNA, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak 200 µl tam kandan saflaştırılmıştır. FV G1691 A lokusun allelik durumu, son nokta PCR ve Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage) üzerinde PSQ-96 SNP Reaktif Kiti ile yapılan Pyrosequencing analizi kullanılarak belirlenmiştir.

Tablo 5. Son nokta PCR ve Pyrosequencing PSQ 96MA üzerinde PSQ-Q96 SNP Reaktif Kiti ile yapılan Pyrosequencing analizi kullanılarak protrombin (PT) genotiplemesi

Genotip	Numara
Doğal Tip	30
PT G20210A heterozigot	0
PT G20210A homozigot	0

30 ayrı donörden tam kan alınmış ve genomik DNA, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak 200 µl tam kandan saflaştırılmıştır. PT G20210A lokusun allelik durumu, son nokta PCR ve Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage) üzerinde PSQ-96 SNP Reaktif Kiti ile yapılan Pyrosequencing analizi kullanılarak belirlenmiştir.

Tablo 6. ApoE Polimorfizmleri T112C ve C158T'nin, ampliconun BigDye™ v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit kullanılarak sekanslanması ve ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer üzerinde ayrılması ile, son nokta PCR kullanılarak analizi

Genotip	Numara
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Diğer	0

10 ayrı donörden tam kan alınmış ve genomik DNA, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak 200 µl tam kandan saflaştırılmıştır. ApoE polimorfizmleri T112C ve C158T'nin analizi, ampliconun BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit kullanılarak sekanslanması ve ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Life Technologies Corporation) üzerinde ayrılması ile, son nokta PCR kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

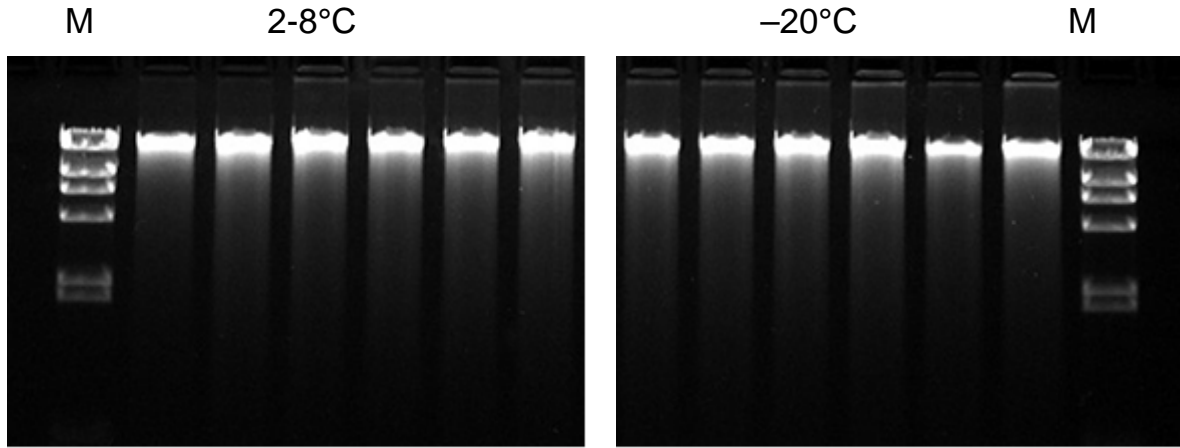
Tablo 7. PCR'de kullanılan elüsyon hacminin ve elüat hacminin PCR performansı üzerindeki etkisi

Elüsyon hacmi	50 µl PCR başına elüat hacmi*		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	%100	%100	%100
100 µl	%100	%100	%97
200 µl	%100	%100	%100

* Değerler, PCR doğruluk oranlarını göstermekte ve 48 örneğin ortalamasını temsil etmektedir.

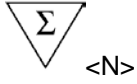
Elüat stabilitesi

Aynı teknolojinin kullanıldığı genel laboratuvar kullanımına yönelik bir kit olan QIAamp DNA Blood Mini Kit kullanılarak oluşturulan elüatlar ile yapılan saklama testlerinde, Tampon AE için ve QIAamp Mini Dönel Kolonlardan ayrıştırılan DNA'nın, 8 yıl boyunca 5°C veya -20°C'de saklandığında stabil olduğu ortaya konmuştur (Şekil 6.). Bununla birlikte, QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kullanılarak elde edilen elüatların stabilitesine ilişkin uzun vadeli çalışmalar devam etmektedir.



Şekil 6. QIAamp Mini dönel kolonlar kullanılarak izole edilen ve saflaştırılan DNA'nın uzun süreli stabilitesi. DNA, QIAamp DNA Blood Mini Kit kullanılarak saflaştırılmış, 200 µl Tampon AE içinde ayrıştırılmış ve 2-8°C'de veya 8 yıl boyunca -20°C'de saklanmıştır. DNA örnekleri, etidyum bromür ile boyanmış agaroz jeli üzerinde analiz edilmiştir. **M:** işaret.

Semboller



<N> örnek hazırlama için yeterli reaktif içerir



Son kullanma tarihi



İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz



Gelince



Teslim edildikten sonra QIAamp Mini dönel kolonları 2-8°C'de saklayın



Katalog numarası



Lot numarası



Materyal numarası



Bileşenler



İçerik



Numara



Hacim



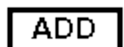
Sıcaklık sınırlaması



Üretici



Şişeye etanol kattıktan sonra geçerli tarihi yazın



Ekleme



Liyofilize


RCNS Yeniden hazırlama maddesi


EtOH Etanol

GuHCl Guanidin hidroklorür

SUBT Subtilizin

➔ Şuna neden olur

 Kullanma talimatlarına bakın

 Önemli not

Referanslar

QIAGEN, kendi ürünlerinin kullanıldığı bilimsel yayınları içeren geniş, güncel bir çevrimiçi veri tabanı sağlar. Kapsamlı arama seçenekleri gereksinim duyduğunuz makaleleri basit bir anahtar kelimesi araması veya uygulama, araştırma alanı, başlık vb. belirterek bulmanızı mümkün kılar.

Referansların tam listesi için www.qiagen.com/RefDB/search.asp adresindeki çevrimiçi QIAGEN Referans Veritabanı'nı ziyaret edin ya da QIAGEN Teknik Servisleri veya yerel distribütörünüzle iletişime geçin.

İletişim Bilgileri

QIAGEN'deki teknik desteğimizin kalitesi ve her an hazır bulunması yönüyle kendimizle gurur duyuyoruz. Teknik Servis Departmanlarımızda örnek ve moleküler biyoloji teknolojileri ve QIAGEN ürünlerinin kullanımı konusunda geniş pratik ve teorik deneyimi bulunan tecrübeli bilim insanları istihdam edilmektedir. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit veya genel olarak QIAGEN ürünleri ile ilgili herhangi bir sorunuz olduğunda ya da herhangi bir zorlukla karşılaştığınızda lütfen bizimle irtibat kurmaktan çekinmeyin.

QIAGEN müşterileri ürünlerin ileri seviyedeki kullanımı ya da uzmanlaşmış kullanımı konusunda ana kaynaktır. Bu bilgiler diğer bilim insanları için olduğu kadar QIAGEN'deki araştırmacılar için de yararlıdır. O nedenle biz sizlerin ürün performansı ya da yeni uygulamalar ve teknikler hakkında herhangi bir öneriniz olduğunda bizimle irtibat kurmanızı destekliyor ve arzu ediyoruz.

Teknik yardım ve daha fazla bilgi için lütfen www.qiagen.com/Support adresindeki Teknik Destek Merkezimize gidin veya QIAGEN Teknik Servis Bölümlerinden ya da yerel distribütörlerden birini arayın (arka kapağa bakın veya www.qiagen.com) adresini ziyaret edin.

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

Sipariş Bilgileri

Ürün	İçindekiler	Kat. no.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	50 DNA işlemi için: QIAamp Mini döne kolonlar, VacConnector'lar, QIAGEN Proteaz, Reaktifler, Tamponlar ve toplama tüpleri	61104
Aksesuarlar		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold *	1-24 dönel kolon işlemek için vakum manifoldu: QIAvac 24 Plus Vakum manifoldu, Luer Tapalar, Hızlı Bağlantı Elemanları	19413
Vacuum Pump *	Evrensel vakum pompası	84020

Güncel lisans bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabına veya kullanıcı kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisinden veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

* Vakum protokolleri ile kullanım için.

Ticari markalar: 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®, A//Set™ (Dynal Biotech); Eppendorf® (Eppendorf AG); LightCycler® (Roche Group); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). Bu belgede geçen kayıtlı isimler, ticari markalar vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalar tarafından korunmaktadır.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit için Sınırlı Lisans Sözleşmesi

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

1. Ürün yalnızca ürünle ve bu el kitabında verilen protokollere uygun olarak kullanılabilir ve yalnızca kitin içinde bulunan bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN, bu kit ile birlikte verilen bileşenlerin el kitabında ve www.qiagen.com adresinden ulaşılabilen ek protokollerde belirtilenlerin dışında bu kitin 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 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 kit ve/veya kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmeyeceğini garanti etmez.
3. Bu kit ve bileşenleri bir kez kullanım için lisanslıdır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açıkça ifade edilenlerin dışında açık veya zımni diğer tüm lisansları açıkça reddeder.
5. Kitin satın alıcısı ve kullanıcısı yukarıda yasaklanan herhangi bir eyleme neden olabilecek veya bunları kolaylaştırabilecek herhangi bir adım atmamayı veya başkasının atmasına izin vermemeyi kabul eder. QIAGEN herhangi bir Mahkemede bu Sınırlı Lisans Anlaşması yasaklamalarını uygulayabilir ve bu sınırlı lisans anlaşmasının veya kit 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.

© 2012 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

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

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

