

# QIAamp<sup>®</sup> DSP Circulating NA Kit Kullanım Talimatları (El Kitabı)



50

Sürüm 2

**IVD**

İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir

**CE**

**REF**

61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Almanya

R1 **MAT**

1127632TR

# İçerik

Kullanım Amacı .....	4
Planlanmış Kullanıcılar .....	4
Açıklama ve İlke .....	5
Örnek hacimleri .....	5
Örnekleri parçalama .....	7
QIAamp Mini kolon membranı yüzeyine tutunma .....	7
Kalıntı kontaminantların giderilmesi .....	7
Saf nükleik asitlerin elüsyonu .....	8
Nükleik asitlerin verimi ve boyutu .....	8
Protokollerin açıklaması .....	9
Özet ve açıklama .....	9
Sağlanan Materyaller .....	10
Kit içeriği .....	10
Kit bileşenleri .....	11
Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler .....	12
Ek reaktifler .....	12
Sarf Malzemeleri .....	12
Ekipman .....	13
Uyarılar ve Önlemler .....	14
Güvenlik bilgileri .....	14
Acil durum bilgileri .....	15
Önlemler .....	15

İmha .....	16
Reaktif Saklama ve Kullanma .....	17
<b>Kullanımda stabilite</b> .....	17
Numune Saklama ve Kullanma .....	18
Prosedür .....	19
Tamponları ve Reaktifleri Hazırlama .....	26
Breeze Protokolü: Dolaşan Nükleik Asitleri 1-5 ml İnsan Kan Plazmasından Safılaştırma .....	29
Klasik Protokol: Dolaşan Nükleik Asitleri 1-5 ml İnsan Kan Plazmasından Safılaştırma .....	34
Kalite Kontrol .....	39
Sınırlamalar .....	39
Performans Özellikleri .....	40
Referanslar .....	41
Sorun Giderme Kılavuzu .....	42
Semboller .....	45
Ek A: Kan Plazma Ayırma ve Saklama için Öneriler .....	48
Ek B: RNA Kullanımıyla İlgili Genel Notlar .....	50
Sipariş Bilgileri .....	51
Belge Revizyon Geçmişi .....	53

## Kullanım Amacı

QIAamp DSP Circulating NA Kit, dolaşan hücre dışı DNA ve RNA'nın insan kan plazma örneklerinden manuel olarak izolasyonu ve saflaştırılması amacıyla silika-membran teknolojisini (QIAamp teknolojisi) kullanan bir sistemdir.

QIAamp DSP Circulating NA Kit in vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

## Planlanmış Kullanıcılar

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

## Açıklama ve İlke

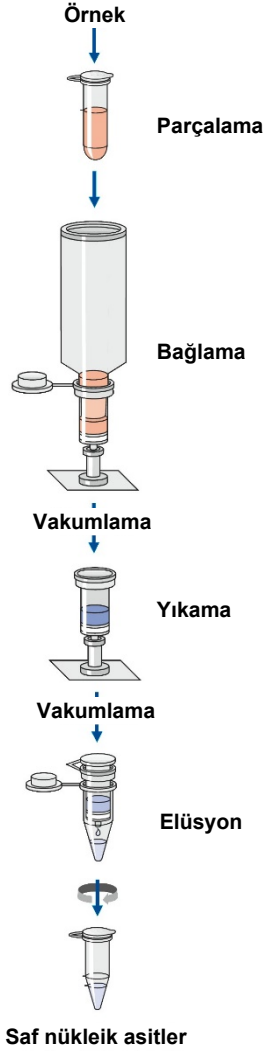
QIAamp DSP Circulating NA prosedürü 4 adımdan (parçalama, bağlama, yıkama ve ayrıştırma) oluşur ve QIAvac sisteminde QIAamp Mini kolonları kullanılarak gerçekleştirilir. Sağlam prosedür örnekten örneğe çapraz kontaminasyonu en aza indirir ve potansiyel olarak enfeksiyöz örnekleri işlerken kullanıcı güvenliğini artırır.

Basit prosedür, 2 saatten daha kısa sürede maks. 24 örneğin aynı anda işlenmesine uygundur.

### Örnek hacimleri

QIAamp Mini kolonları, 20 nt kadar kısa parçalı nükleik asitleri bağlar; ancak verim, örnek hacmine ve örnekte yer alan dolaşan nükleik asitlerin konsantrasyonuna (plazmada tipik olarak 1-100 ng/ml) bağlıdır. QIAamp DSP Circulating NA prosedürü, maks. 5 ml'lik örnek hacimleri için optimize edilmiştir.

**QIAamp DSP Circulating  
NA Kit Prosedürü**



**Şekil 1. QIAamp DSP Circulating NA Kit prosedürüne genel bakış.**

## Örnekleri parçalama

Biyolojik sıvılardaki serbest dolaşan nükleik asitler genellikle proteinlere bağlanarak veziküllerde zarflanır ve bu, QIAamp Mini kolonuna selektif bağlanma için nükleik asitlerin serbest bırakılması için etkili bir lizis adımı gerektirir. Bu nedenle örnekler, proteinaz K ve Buffer ACL varlığında yüksek sıcaklıklarda, yüksek düzeyde denatüran koşullar altında parçalanır; bu işlem ise, DNazların ve RNAazların inaktivasyonunu ve nükleik asitlerin bağlı proteinlerden, lipidlerden ve veziküllerden serbest bırakılmasını sağlar.

## QIAamp Mini kolon membranı yüzeyine tutunma

Dolaşan nükleik asitlerin membrana optimal bağlanmasını sağlamak için, bağlanma koşulları lizata Buffer ACB eklenmesi ile ayarlanır. Daha sonra lizatlar bir QIAamp Mini kolonuna aktarılır ve lizat vakum basıncı ile çekilirken dolaşan nükleik asitler büyük bir hacimden silika membranın yüzeyine tutunur. Tuz ve pH koşulları, PCR'yi ve diğer aşağı akışlı enzimatik reaksiyonları inhibe edebilecek birçok protein ve başka kontaminantların QIAamp Mini kolon membranında tutunmamasını sağlar.

Protokol için bir vakum manifoldu (örneğin QIAvac Connecting System içeren QIAvac 24 Plus) ve ~800-900 mbar'lık bir vakum oluşturabilen bir vakum pompası (örneğin QIAGEN® Vacuum Pump) gerekir. Vakum basıncı ve uygun vakum bırakmanın kolay bir şekilde izlenmesi için bir Vacuum Regulator (QIAvac Connecting System'in bir parçası) kullanılmalıdır.

## Kalıntı kontaminantların giderilmesi

Nükleik asitler membrana bağlı kalırken, kontaminantlar 3 yıkama adımı sırasında etkili bir şekilde yıkanarak uzaklaştırılır.

## Saf nükleik asitlerin elüsyonu

Elüsyon, Buffer AVE kullanılarak gerçekleştirilir. Tek bir adımda, yüksek saflıktaki dolaşan nükleik asitler, Buffer AVE'de elüe edilerek oda sıcaklığına dengelenir. 50-150 µl'lik esnek bir elüsyon hacmi uygulanabilir. Daha yüksek nükleik asit konsantrasyonları gerekiyorsa, elüsyon hacmi 20 µl'ye kadar düşürülebilir. 50 µl'den daha düşük elüsyon hacimleri daha yüksek konsantrasyonda nükleik asit elüatlarına neden olur; ancak daha düşük toplam verim ile sonuçlanabilir.

Geri kazanılan elüat hacmi kolona uygulanan elüsyon tamponu hacminden maks. 5 µl daha az olabilir.

## Nükleik asitlerin verimi ve boyutu

Biyolojik örneklerden izole edilen serbest dolaşan nükleik asitlerin verimleri normalde 1 µg'nin altındadır ve bu nedenle bunların bir spektrofotometre ile belirlenmesi zordur. QIAamp DSP Circulating NA Kit kullanılarak bir örnekten elde edilen dolaşan DNA ve RNA'nın mutlak verimi, farklı bireylerden elde edilen örnekler arasında farklılık gösterir ve aynı zamanda diğer faktörlere (örneğin belirli hastalık durumları) de bağlıdır. Ayrıca, ekstrakte edilen nükleik asitlerde bulunan taşıyıcı RNA'nın UV absorbans okumalarında baskın olması muhtemeldir (bakınız, sayfa 27). Verimlerin belirlenmesi için kantitatif amplifikasyon yöntemleri önerilir.

QIAamp DSP Circulating NA Kit kullanılarak saflaştırılan dolaşan nükleik asitlerin boyut dağılımı, agaroz jel elektroforezi veya bir hedefe özgü etiketlenmiş proba hibridizasyon (1) veya bir mikro akışkan elektroforez solüsyonu (örneğin Agilent® Bioanalyzer) ile kontrol edilebilir.



## Protokollerin açıklaması

Bu el kitabında iki farklı protokol sağlanır.

- "Breeze Protokolü: Dolaşan Nükleik Asitleri 1-5 ml İnsan Kan Plazmasından Safılaştırma" (sayfa 29), 1 ml'lik adımlarda maks. 5 ml plazmanın işlenmesine yöneliktir ve daha düşük cihaz başında bekleme ve iş bitirme süresi açısından optimize edilmiştir.
- "Klasik Protokol: Dolaşan Nükleik Asitleri 1-5 ml İnsan Kan Plazmasından Safılaştırma" (sayfa 34), 1 ml'lik adımlarda maks. 5 ml plazmanın işlenmesine yöneliktir ve *QIAamp DSP Circulating NA Kit El Kitabı* sürüm 1, revizyon 3 (R3) belgesindeki değişiklik yapılmamış protokolü teşkil eder.

## Özet ve açıklama

Serbest dolaşan nükleik asitler insan plazmasında genellikle <1000 bp (DNA), <1000 nt (RNA) veya hatta 20 nt kadar küçük (miRNA'lar) kısa parçalar halinde bulunur. İnsan kan plazmasındaki serbest dolaşan nükleik asitlerin konsantrasyonu oldukça düşüktür ve insan örneklerinde 1-100 ng/ml aralığında değişmekle birlikte bireyden bireye önemli ölçüde değişiklik gösterir (2-6).

QIAamp DSP Circulating NA Kit, dolaşan nükleik asitlerin insan plazmasından etkili bir şekilde saflaştırılmasını sağlar. Örnekler taze veya dondurulmuş olabilir. QIAvac 24 Plus üzerindeki uzatma tüpleri ve vakum ile işleme, maks. 5 ml'lik numune hacimleri ile başlatmayı sağlar ve 20 ile 150 µl arasındaki esnek elüsyon hacimleri, düşük konsantrasyonlarda bulunan nükleik asit türlerinin konsantrasyonunu sağlar.

Elüe edilmiş serbest dolaşan genomik DNA veya RNA, aşağı akışlı uygulamalarda kullanıma hazırdır ve saklamaya uygundur. Kullanıcı, plazma girişini ve elüsyon hacmini spesifik hedef ve laboratuvarlarındaki aşağı akışlı uygulama için optimize etmelidir.

# Sağlanan Materyaller

## Kit içeriği

<b>QIAamp DSP Circulating NA Kit</b>	<b>(50)</b>
<b>Katalog no.</b>	<b>61504</b>
<b>Hazırlama sayısı</b>	<b>50</b>

	<b>Kimlik</b>	<b>Semboller</b>	<b>Adet</b>
QIAamp Mini	QIAamp Mini columns with Wash Tubes (WT) (Yıkama Tüpleri (WT) ile QIAamp mini kolonları (2 ml))	<b>COL</b>	50
EXT	Column Extenders (Kolon Uzaticıları) (20 ml)	<b>COL EXT</b>	2 x 25
WT	Wash Tubes (Yıkama Tüpleri) (2 ml)	<b>WASH TUBE</b>	50
ET	Elution Tubes (Elüsyon Tüpleri) (1,5 ml)	<b>ELU TUBE</b>	50
VC	VacConnectors	<b>VAC CON</b>	50
ACL*	Lysis Buffer* (Lizis Tamponu)	<b>LYS BUF</b>	220 ml
ACB*	Binding Buffer* (Bağlama Tamponu) (konsantre)	<b>BIND BUF CONC</b>	300 ml
ACW1*	Wash Buffer 1* (Yıkama Tamponu 1) (konsantre)	<b>WASH BUF 1 CONC</b>	19 ml
ACW2†	Wash Buffer 2† (Yıkama Tamponu 2) (konsantre)	<b>WASH BUF 2 CONC</b>	13 ml
AVE†	Elution Buffer† (Elüsyon Tamponu) (mor kapaklı)	<b>ELU BUF</b>	5 x 2 ml
PROTK	QIAGEN Proteinase K	<b>PROTK</b>	4 x 7 ml
Carrier	Carrier RNA (Taşıyıcı RNA) (kırmızı kapaklı)	<b>CAR RNA</b>	310 µg
QIAamp Mini	QIAamp Mini columns with Wash Tubes (WT) (Yıkama Tüpleri (WT) ile QIAamp mini kolonları (2 ml))	<b>COL</b>	50
	El Kitabı	<b>H B</b>	1

\* Bir kaotropik tuz içerir. Uyarılar ve Önlemler için sayfa 14'e bakın.

† Korumucu madde olarak sodyum azid içerir.

## Kit bileşenleri

Kitin ana bileşenleri aşağıda açıklanmaktadır.

**Tablo 1. Sağlanan reaktiflerdeki Aktif Bileşenler**

Reaktif		Aktif Bileşen	Konsantrasyon
Sembol	Ad		
ACL	Lysis Buffer (Lizis Tamponu)	Guanidin tiyosiyanat	≥%30 ila <%50 a/a
ACB	Binding Buffer (Bağlama Tamponu) (konsantre)	Guanidin tiyosiyanat	≥%30 ila <%50 a/a
ACW1	Wash Buffer 1 (Yıkama Tamponu 1) (konsantre)	Guanidin hidroklorür	≥30 ila <%60 a/a
ACW2	Wash Buffer 2 (Yıkama Tamponu 2) (konsantre)	Yok	–
AVE	Elution Buffer (Elüsyon Tamponu) (mor kapaklı)	Yok	–
PROTK	QIAGEN Proteinase K	Proteinaz K	≥%1 ila %3 a/a
Carrier	Carrier RNA (Taşıyıcı RNA) (kırmızı kapaklı)	Yok	–

## Kontroller ve kalibratörler

Tanıya yönelik sonuçlar üzerine herhangi bir negatif etki riskini en aza indirmek için aşağıdaki uygulamalar için yeterli kontroller kullanılmalıdır.

# Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler

## Ek reaktifler

- Etanol (%96-100)\*
- İzopropanol (%100)
- Ezilmiş buz (yalnızca "Klasik Protokol: Dolaşan Nükleik Asitleri 1-5 ml İnsan Kan Plazmasından Saflaştırma" için)
- Bazı örneklerde fosfat tamponlu salin (Phosphate-buffered Saline, PBS) ile dilüsyon gerekebilir.

## Sarf Malzemeleri

- Pipetler (ayarlanabilir)
- Steril pipet uçları (çapraz kontaminasyonu engellemeye yardımcı olmak için aerosol bariyerleri olan pipet uçları önerilir)
- 1,5 veya 2 ml nükleaz içermeyen mikro tüpler
- 50 ml santrifüj tüpü

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

## Ekipman

- 56°C veya 60°C'de 50 ml santrifüj tüplerini tutabilen su banyosu veya ısıtma bloğu\*
- 56°C'de, 2 ml yıkama tüplerini (yalnızca Klasik Protokol için) tutabilen ısıtma bloğu veya benzeri\*
- Vorteksleyici
- Mikrosantrifüj (2 ml'lik tüpler için rotorlu)\*
- QIAvac 24 Plus vacuum manifold (kat. no. 19413)
- QIAvac Connecting System (kat. no. 19419) veya muadili
- Vacuum Pump (kat. no. 84010 [ABD ve Kanada], 84000 [Japonya] veya 84020 [Dünyanın geri kalanı]) veya -800 ila -900 mbar vakum oluşturma kapasiteli muadil pompa
- İsteğe bağlı: VacValves (kat. no. 19408)

\* Cihazların üreticinin önerilerine göre kontrol ve kalibre edilmiş olduğundan emin olun.

# Uyarılar ve Önlemler

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

İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir

## Güvenlik bilgileri

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

UYARI



Kişisel yaralanma riski

Örnek hazırlama atığına doğrudan çamaşır suyu veya asidik solüsyonlar EKLEMEYİN.

Buffer ACL, Buffer ACB ve Buffer ACW1, çamaşır suyu ile birleştirildiğinde yüksek derecede reaktif bileşikler oluşturabilen guanidin tuzları içermektedir.

Bu tamponları içeren sıvı dökülürse uygun laboratuvar deterjanı ve suyla temizleyin. Dökülen sıvı enfeksiyöz olabilecek ajanlar içeriyorsa etkilenmiş bölgeyi önce laboratuvar deterjanı ve suyla ve sonrasında %1 (h/h) sodyum hipoklorit ile temizleyin.

- Numuneler ve örnekler potansiyel olarak enfeksiyözdür. Örneği ve tahlil atıklarını, yerel güvenlik prosedürlerinize uygun olarak imha edin.

## Acil durum bilgileri

CHEMTREC

ABD & Kanada 1-800-424-9300

ABD ve Kanada Dışı +1 703-527-3887

## Önlemler

QIAamp DSP Circulating NA Kit bileşenleri için aşağıdaki tehlike ve önlem ifadeleri geçerlidir.

### Buffer ACB



İçerik: guanidin tiyosiyanat. Tehlike! Yutulursa zararlıdır. Cilde temas ederse veya solunursa zararlı olabilir. Şiddetli cilt yanıkları ve göz hasarına neden olur. Sudaki organizmalar üzerinde uzun dönemli etkilere sahiptir ve zararlıdır. Asitlerle temas etmesi oldukça toksik gaz açığa çıkarır. Koruyucu eldiven/koruyucu giysiler/göz koruması/yüz koruması kullanın. GÖZE KAÇMIŞSA: Birkaç dakika suyla iyice durulayın. Eğer varsa ve çıkarması kolaysa kontak lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin. Hemen bir ZEHİR MERKEZİNİ veya doktoru/hekimi arayın.

### Buffer ACL



İçerik: guanidin tiyosiyanat. Tehlike! Yutulursa zararlıdır. Cilde temas ederse veya solunursa zararlı olabilir. Şiddetli cilt yanıkları ve göz hasarına neden olur. Sudaki organizmalar üzerinde uzun dönemli etkilere sahiptir ve zararlıdır. Asitlerle temas etmesi oldukça toksik gaz açığa çıkarır. Koruyucu eldiven/koruyucu giysiler/göz koruması/yüz koruması kullanın. GÖZE KAÇMIŞSA: Birkaç dakika suyla iyice durulayın. Eğer varsa ve çıkarması kolaysa kontak lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin. Hemen bir ZEHİR MERKEZİNİ veya doktoru/hekimi arayın.

### Buffer ACW1



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

## Proteinaz K



İçerik: Proteinaz K. Tehlike! Hafif derecede cilt tahrişine neden olur. Solunursa alerji veya astım belirtileri veya solunum zorluklarına neden olabilir. Tozu/buğuyu/gazı/dumanı/buharı/spreyi solumaktan kaçının. Koruyucu eldiven/koruyucu giysiler/göz koruması/yüz koruması kullanın. Solunum koruması kullanın. Maruz kalmanız veya endişelenmeniz durumunda: Bir ZEHİR MERKEZİ veya doktoru/hekimi arayın. Kişiyi temiz havaya çıkarın ve solunum için rahat bir pozisyonda tutun. İçeriği/kabı onaylı bir atık imha tesisine atın.

## İmha

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

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



## Reaktif Saklama ve Kullanma

QIAamp Mini kolonları 2-8°C'de kuru halde saklanmalıdır. Tüm tamponlar oda sıcaklığında (15-25°C) saklanmalıdır. QIAamp Mini kolonları ve tamponları, performans azalması göstermeksizin kit kutusu üzerindeki son kullanma tarihine kadar bu koşullar altında saklanabilir.

Liyofilize taşıyıcı RNA, bileşen etiketi üzerindeki son kullanma tarihine kadar oda sıcaklığında (15-25°C) saklanmalıdır. Taşıyıcı RNA yalnızca Buffer AVE içinde çözünmelidir; çözünmüş taşıyıcı RNA, Breeze Protokolü için sayfa 30 ve Klasik Protokol için sayfa 35'te açıklandığı şekilde Buffer ACL'ye hemen eklenmelidir. Bu solüsyon taze olarak hazırlanmalıdır. Buffer AVE içinde çözünen taşıyıcı RNA'nın kullanılmayan bölümleri, -30°C ila -15°C'de alikotlar halinde dondurulmalıdır.

QIAamp DSP Circulating NA Kit, özel olarak formüle edilmiş bir saklama tamponuna çözünen kullanıma hazır bir proteinaz K solüsyonu içerir. Proteinaz K, oda sıcaklığında (15-25°C) saklandığında bileşen etiketi üzerindeki son kullanma tarihine kadar stabildir.

### Kullanımda stabilite

Kit, hangisi daha erken meydana gelirse, ilk kullanımdan itibaren 12 ay boyunca veya son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

# Numune Saklama ve Kullanma

## Kan saklama ve kullanma

Hücre dışı nükleik asitlerin degradasyonunu ve hücrel nükleik asitlerin serbest bırakılmasını önlemek için, tam kanın 2-8°C'de maksimum 6 saat boyunca saklanmasını öneririz (örneğin EDTA örnekleri). Stabilize edilmiş kan toplama tüplerinin kullanılması halinde, lütfen üretici tarafından sağlanan saklama koşullarını dikkate alın. Bu saklama koşullarını özel aşağı akışlı uygulamanız ve hedefiniz ile birlikte valide edilmesini öneririz.

## Plazma saklama ve kullanma

Özellikle RNA için antikoagülan olarak EDTA kullanırken plazma ayırma ve nükleik asit izolasyonu işlemlerinin kan alınmasından hemen sonra yapılması önerilir. Kısa süreli saklama için plazma 2-8°C'de maks. 24 saat saklanabilir.

Daha uzun süreli saklama için, stabilize edilmiş veya edilmemiş kan toplama tüplerinden plazma alikotları -20°C veya -80°C'de maks. 12 ay (yalnızca hedef olarak DNA için) veya -80°C'de 4 hafta (hedef olarak RNA) saklanabilir.

## Elüe edilmiş nükleik asitleri saklama

Elüe edilmiş nükleik asitler 1,5 ml'lik elüsyon tüplerinde (birlikte verilir) toplanır. Saflaştırılmış dolaşan nükleik asitler, 2-8°C'de maks. 24 saklanabilir. 24 saatten uzun saklama sürelerinde, DNA için -30°C ila -15°C ve RNA aşağı akışlı uygulamalar için -90°C ila -60°C önerilir.

# Prosedür

## Başlamadan önce önemli noktalar

### QIAvac 24 Plus

QIAvac 24 Plus, maks. 24 QIAGEN döndürme kolonunu paralel olarak hızlı ve etkili vakum işleme için tasarlanmıştır. Örnekler ve yıkama solüsyonları, santrifüjleme yerine vakum ile kolon membranları içinden çekilir ve saflaştırma prosedürlerinde daha yüksek hız ve daha az cihaz başında bekleme sağlar.

QIAvac Connecting System ile birlikte QIAvac 24 Plus, bir akış sistemi olarak kullanılabilir. Örnek akışı ayrı bir atık şişesinde toplanır.

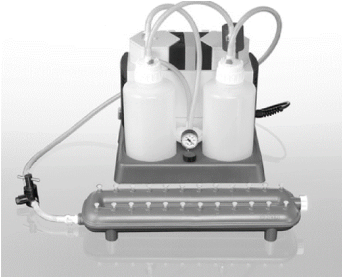
QIAvac 24 Plus bakımı için, *QIAvac 24 Plus El Kitabı* belgesindeki kullanma kılavuzlarına bakın.

### QIAvac 24 Plus üzerindeki QIAamp Mini kolonlarını işleme

QIAamp Mini kolonları, QIAvac 24 Plus üzerinde tek kullanımlık VacConnectors ve tekrar kullanılabilir VacValves kullanılarak işlenir. VacValves (isteğe bağlı) doğrudan QIAvac 24 Plus manifoldunun luer slotlarına yerleştirilir ve sabit bir akış oranı sağlarken farklı örnek hacimlerinin paralel olarak işlenmesini kolaylaştırır. Bunlar, örnek akış oranları farklılık gösterirse tutarlı vakum sağlamak için kullanılmalıdır. VacConnectors, QIAamp Mini kolonları ile VacValves arasında veya QIAamp Mini kolonları ile QIAvac 24 Plus luer slotları arasında oturan tek kullanımlık konektörlerdir. Saflaştırma sırasında döndürme kolonu ile VacValve arasındaki doğrudan teması engelleyerek örnekler arasındaki çapraz kontaminasyonu engeller. VacConnectors tek kullanım sonrasında atılır. Kullanılan büyük solüsyon hacimleri nedeniyle QIAvac Connecting System (veya atık şişeleri içeren benzer bir tertibat) gerekir (bakınız, Şekil 2).

## QIAvac 24 Plus için kullanma kılavuzları

- QIAvac 24 Plus cihazını her zaman güvenli bir tezgah üstüne veya çalışma alanına yerleştirin. Düşmesi halinde QIAvac 24 Plus manifoldu çatlayabilir.
- QIAvac 24 Plus cihazını her zaman temiz ve kuru tutun. Temizlik işlemleri için, *QIAvac 24 Plus El Kitabı* belgesine bakın.
- QIAvac 24 Plus bileşenleri belirli solventlere dirençli değildir (Tablo 2). Bu solventler üniteye dökülürse, suyla iyice yıkayın.
- Tutarlı performans sağlamak için, QIAvac 24 Plus manifoldunun herhangi bir parçasına silikon veya vakum yağı uygulamayın.
- Basınç altında bir vakum manifoldunun yakınında çalışırken her zaman dikkatli olun ve güvenlik gözlükleri kullanın.
- Yedek veya değişim parçalarına ilişkin bilgiler için QIAGEN Teknik Servisleri veya yerel distribütörünüz ile iletişim kurun.
- Vakum basıncı vakum manifoldunun içi ile atmosfer (standart atmosfer basıncı 1013 millibar veya 760 mm Hg) arasındaki diferansiyel basınçtır ve QIAvac Connecting System (bakınız, Şekil 2) kullanılarak ölçülebilir. Protokollerde, bir vakum veya -800 ila -900 mbar vakum oluşturma kapasiteli bir vakum pompası (örneğin QIAGEN Vacuum Pump) gerekir. Daha yüksek vakum basınçlarından kaçınılmalıdır. Önerilenin altındaki vakum basınçları, nükleik asit verimini düşürebilir ve tıkanmış membran riskini artırabilir.



Şekil 2. QIAvac 24 Plus, QIAvac Connecting System ve Vacuum Pump.

**Tablo 2. QIAvac 24 Plus'ın kimyasal direnç özellikleri**

Dirençli		Dirençli değil
Asetik asit	Kaotropik tuzlar	Benzen
Kromik asit	Konsantre alkoller	Fenol
SDS	Sodyum klorür	Kloroform
Tween™ 20	Üre	Toluen
Klorlu çamaşır suyu	Hidroklorik asit	Eterler
Sodyum hidroksit		

## QIAvac 24 Plus vacuum manifold kurulumu

1. QIAvac 24 Plus'ı bir vakum kaynağına bağlayın. QIAvac Connecting System'i kullanarak sistemi manifolda ve vakum kaynağına *QIAvac 24 Plus El Kitabı* belgesine ait Ek A'da açıklandığı şekilde bağlayın.
2. Kullanılacak QIAvac 24 Plus'ın her bir luer slotuna bir VacValve (isteğe bağlı) takın (bakınız, Şekil 3). Kullanılmayan luer slotlarını luer tapaları ile kapatın veya yerleştirilen VacValve'yi kapatın.  
VacValves, örneklerin akış oranları önemli ölçüde değişiklik gösteriyorsa tutarlı vakum sağlamak için kullanılmalıdır.
3. Bir VacConnector'u her bir VacValve içine takın (bakınız, Şekil 3).  
Bu adımı, VacConnectors'un havadaki potansiyel kontaminantlara maruziyetini engellemek için saflaştırmaya başlamadan önce doğrudan gerçekleştirin.
4. QIAamp Mini kolonlarını manifold üzerindeki VacConnectors içine yerleştirin (bakınız, Şekil 3).  
**Not:** Saflaştırma protokolünde kullanım için blister paketindeki yıkama tüpünü saklayın.
5. Bir kolon uzatıcısı (20 ml) her bir QIAamp Mini kolonu içine takın (bakınız, Şekil 3).  
**Not:** Örneğin sızmasını önlemek için kolon uzatıcısının QIAamp Mini kolonu içine sıkı bir şekilde yerleştirildiğinden emin olun.

6. Nükleik asit saflaştırması için protokollerdeki talimatları izleyin. Kullanımdan sonra VacConnectors'ları uygun şekilde atın.

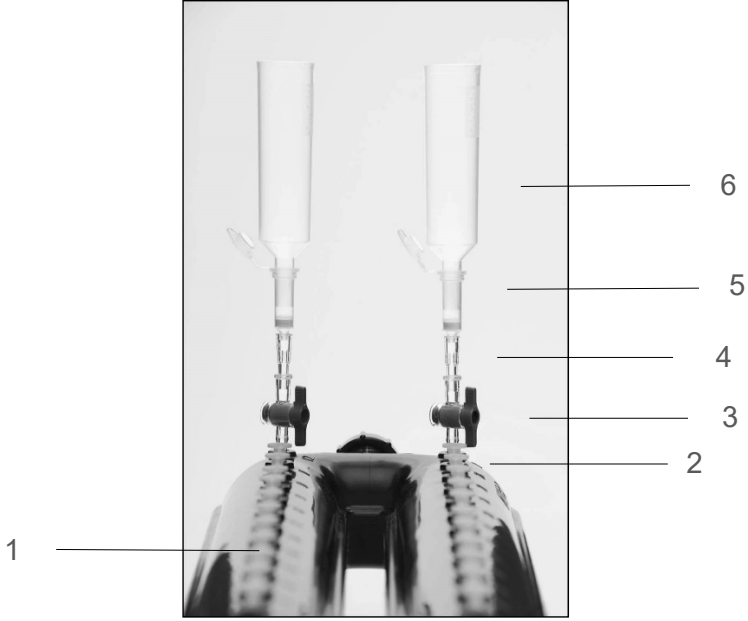
Vakum uygularken QIAamp Mini kolonunun kapağını açık bırakın.

İşleme boyunca tutarlı ve eşit vakum uygulandığından emin olmak için vakumu adımlar arasında kapatın. Daha hızlı vakum bırakma için bir Vacuum Regulator (QIAvac Connecting System'in bir parçası) kullanılmalıdır.

**Not:** Örnek döndürme kolonları içinden çekildiğinde her bir VacValve ayrı olarak kapatılmalıdır, böylece farklı hacimlerde veya viskozitelerde örneklerin paralel işlenmesi sağlanır.

7. Örnekleri işledikten sonra, QIAvac 24 Plus'ı temizleyin (bakınız, *QIAvac 24 Plus El Kitabı* belgesinde "QIAvac 24 Plus Temizliği ve Dekontaminasyonu").

**Not:** Buffer ACL, ACB ve ACW1 çamaşır suyu içeren dezenfeksiyon ajanları ile uyumlu değildir. Uyarılar ve Önlemler için sayfa 14'e bakın.



**Şekil 3. VacValves, VacConnectors ve Column Extenders kullanarak QIAamp Mini kolonları içeren QIAvac 24 Plus kurulumu.**

- |   |  |   |                    |
|---|--|---|--------------------|
| 1 | QIAvac 24 Plus vacuum manifold                         | 4 | VacConnector       |
| 2 | QIAvac 24 Plus luer slotu (luer tapası ile kapatılmış) | 5 | QIAamp Mini kolonu |
| 3 | VacValve*  | 6 | Kolon Uzatıcı      |

Örneklerin karışmasını önlemek için QIAvac 24 Plus vakum sisteminde kullanıma yönelik tüpleri ve QIAamp Mini kolonlarını Şekil 4'teki şemaya göre etiketlemenizi öneririz. Bu şeklin fotokopisi alınabilir ve örnek adlarıyla etiketlenebilir.

\* Ayrı olarak satın alınmalıdır.

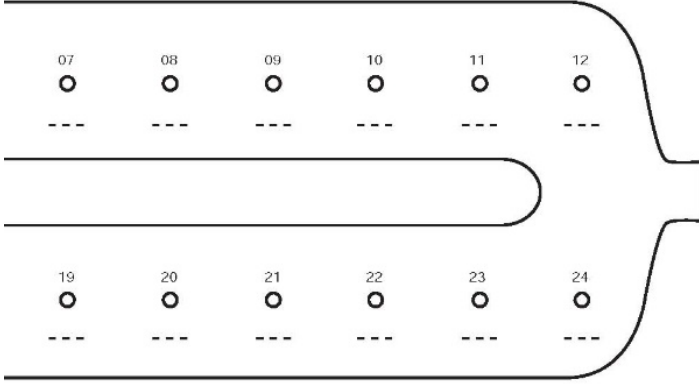
01	02	03	04	05	06
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
---	---	---	---	---	---
13	14	15	16	17	18
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
---	---	---	---	---	---

Tarih: \_\_\_\_\_

Operatör: \_\_\_\_\_

Çalışma Kimliği: \_\_\_\_\_





**Şekil 4. QIAvac 24 Plus vakum sisteminde kullanıma yönelik tüpler ve QIAamp Mini kolonları için etiketleme şeması.**

# Tamponları ve Reaktifleri Hazırlama

## Buffer ACB

Kullanımdan önce, 500 ml Buffer ACB elde etmek için 300 ml Buffer ACB konsantresine 200 ml izopropanol (%100) ekleyin. İzopropanolü ekledikten sonra iyice karıştırın.

## Buffer ACW1\*

Kullanımdan önce, 44 ml Buffer ACW1 elde etmek için 19 ml Buffer ACW1 konsantresine 25 ml etanol (%96-100) ekleyin. Etanolü ekledikten sonra iyice karıştırın.

## Buffer ACW2†

Kullanımdan önce, 43 ml Buffer ACW2 elde etmek için 13 ml Buffer ACW2 konsantresine 30 ml etanol (%96-100) ekleyin. Etanolü ekledikten sonra iyice karıştırın.

## Buffer ACL'ye taşıyıcı RNA ekleme\*

Taşıyıcı RNA'nın 2 amacı vardır: İlk olarak, özellikle örnekte çok az hedef molekül bulunuyorsa nükleik asitlerin QIAamp Mini membranına bağlanmasını sağlar. İkinci olarak, yüksek miktarda taşıyıcı RNA eklenmesi, RNaz moleküllerinin Buffer ACL'de bulunan kaotropik tuzlar ve deterjanlar tarafından denatürasyondan kaçtığı nadir durumlarda RNA degradasyonu olasılığını azaltır.

\* Kaotropik tuz içerir. Uyarılar ve Önlemler için sayfa 14'e bakın.

† Koruyucu madde olarak sodyum azid içerir.

Sağlanan liyofilize taşıyıcı RNA, kit ile sağlanan Buffer ACL hacmi için yeterlidir. Önerilen taşıyıcı RNA konsantrasyonu, QIAamp DSP Circulating NA protokolünün, birçok farklı amplifikasyon sistemiyle uyumlu olan ve çok çeşitli RNA ve DNA hedefleri için uygun olan genel bir saflaştırma sistemi olarak kullanılabilceği şekilde ayarlanmıştır.

Farklı amplifikasyon sistemlerinin etkinliği, reaksiyonda bulunan toplam nükleik asit miktarına bağlı olarak farklılık gösterir. Kitte bulunan elüatlar, dolaşan nükleik asitler ve taşıyıcı RNA içerir ve taşıyıcı RNA miktarı, birçok durumda dolaşan nükleik asitlerin miktarını büyük ölçüde aşar. Bu nedenle izole edilmiş, dolaşan nükleik asitlerin UV absorbans okuması ile kantifikasyonu yeterli olmayacaktır; çünkü bu tür ölçümlerin sonuçları taşıyıcı RNA varlığı ile belirlenmektedir.

Amplifikasyon reaksiyonlarında en yüksek duyarlılık seviyelerini elde etmek için Buffer ACL'ye eklenen taşıyıcı RNA miktarını düşürmek gerekli olabilir.

Oligo dT primerlerini içeren amplifikasyon sistemleri için, serbest dolaşan nükleik asitlerin izolasyonu sırasında hiçbir taşıyıcı RNA eklenmemelidir.

0,2 µg/µl konsantrasyonunda bir solüsyon elde etmek için 310 µg liyofilize taşıyıcı RNA içeren tüpe 1550 µl Buffer AVE\* ekleyin. Taşıyıcı RNA'yı tamamen çözündürün, uygun şekilde boyutlandırılmış alikotlara ayırın ve -30°C ila -15°C'de saklayın. Taşıyıcı RNA alikotlarını tekrar tekrar dondurup çözdüremeyin.

Taşıyıcı RNA'nın Buffer ACL içinde çözünmediğini unutmayın. Önce Buffer AVE içinde çözündürülmeli ve ardından Buffer ACL'ye eklenmelidir.

Protokollerdeki tablolara göre örneklerin her bir partisi için gerekli Buffer ACL-taşıyıcı RNA karışımının hacmini hesaplayın. Aynı zamanda işlenecek örnek sayısını seçin.

\* Koruyucu madde olarak sodyum azid içerir.

Tüpü veya şişeyi 10 kez baş aşağı çevirerek yavaşça karıştırın. Köpük oluşmasını önlemek için vortekslemeyin.

**Not:** Örnek hazırlama prosedürü, örnek başına maksimum 1,0 µg taşıyıcı RNA için optimize edilir. Amplifikasyon sisteminiz için daha az taşıyıcı RNA'nın daha iyi olduğu gösterilmişse Buffer ACL içeren tüplere yalnızca gereken miktarda çözünmüş taşıyıcı RNA aktarın. Hazırlama başına gereken taşıyıcı RNA'nın her bir mikrogramı için Buffer ACL'ye 5 µl çözünmüş taşıyıcı RNA ekleyin. (Örnek başına 1,0 µg'dan az taşıyıcı RNA kullanımı faydalı olabilir ve her belirli örnek tipi ve aşağı akışlı tahlil için doğrulanmalıdır.)

# Breeze Protokolü: Dolaşan Nükleik Asitleri 1-5 ml İnsan Kan Plazmasından Safılaştırma

Bu protokol, dolaşan DNA ve RNA'nın 1-5 ml insan kan plazmasından saflaştırılmasına yöneliktir ve düşük cihaz başına bekleme ve iş bitirme süresi için optimize edilmiştir. QIAamp DSP Circulating NA Kit sürüm 1/R3 kullanarak mevcut kullanıcı için valide edilmiş iş akışları için, lütfen "Klasik Protokol: Dolaşan Nükleik Asitleri 1-5 ml İnsan Kan Plazmasından Safılaştırma" (sayfa 34) kısmına bakın.

## Başlamadan önce önemli noktalar

- Tüm santrifüjleme adımları oda sıcaklığında (15-25°C) gerçekleştirilir.
- Protokol adımları boyunca tutarlı ve eşit vakum uygulandığından emin olmak için vakumu adımlar arasında kapatın.  
**Not:** Vacuum Pump basıncı -800 ile -900 mbar arasında olmalıdır.
- Örnekleri oda sıcaklığına dengeleyin.
- Örnek hacmini en yakın tam hacme (1 ila 5 ml) getirmek için PBS kullanın.
- QIAvac 24 Plus kurulumunu sayfa 21'de açıklandığı şekilde yapın.
- Adım 3'te 50 ml santrifüj tüpleri ile kullanılmak üzere bir su banyosunu veya ısıtma bloğunu 56°C'ye ısıtın.
- QIAamp Mini döndürme kolonlarını kullanmadan önce en az 1 saat boyunca oda sıcaklığına dengeleyin.
- Buffer ACB, Buffer ACW1 ve Buffer ACW2'nin sayfa 26'daki talimatlara göre hazırlandığından (izopropanol veya etanol eklemesi) emin olun.
- Buffer AVE içinde sulandırılmış taşıyıcı RNA'yı Tablo 3'teki talimatlara göre Buffer ACL'ye ekleyin.

**Tablo 3. 1-5 ml insan kan plazma örneklerini işlemek için gereken Buffer ACL ve taşıyıcı RNA (Buffer AVE içinde çözündürülmüş) hacmi**

ml plazma için ayar	A	B	C	D	E	
	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	
Örnek sayısı	Buffer ACL (ml)					Buffer AVE içindeki taşıyıcı RNA (µl)
1	0,9	1,8	2,6	3,5	4,4	5,6
2	1,8	3,5	5,3	7,0	8,8	11,3
3	2,6	5,3	7,9	10,6	13,2	16,9
4	3,5	7,0	10,6	14,1	17,6	22,5
5	4,4	8,8	13,2	17,6	22,0	28,1
6	5,3	10,6	15,8	21,1	26,4	33,8
7	6,2	12,3	18,5	24,6	30,8	39,4
8	7,0	14,1	21,1	28,2	35,2	45,0
9	7,9	15,8	23,8	31,7	39,6	50,6
10	8,8	17,6	26,4	35,2	44,0	56,3
11	9,7	19,4	29,0	38,7	48,4	61,9
12	10,6	21,1	31,7	42,2	52,8	67,5
13	11,4	22,9	34,3	45,8	57,2	73,1
14	12,3	24,6	37,0	49,3	61,6	78,8
15	13,2	26,4	39,6	52,8	66,0	84,4
16	14,1	28,2	42,2	56,3	70,4	90,0
17	15,0	29,9	44,9	59,8	74,8	95,6
18	15,8	31,7	47,5	63,4	79,2	101,3
19	16,7	33,4	50,2	66,9	83,6	106,9
20	17,6	35,2	52,8	70,4	88,0	112,5
21	18,5	37,0	55,4	73,9	92,4	118,1
22	19,4	38,7	58,1	77,4	96,8	123,8
23	20,2	40,5	60,7	81,0	101,2	129,4
24	21,1	42,2	63,4	84,5	105,6	135,0

## Prosedür: Breeze Protokolü

1. **Bu siparişte** QIAGEN Proteinase K, plazma ve Buffer ACL'yi bir 50 ml santrifüj tüpü (verilmemiştir) içine pipetleyin.

Ayar	A	B	C	D	E
ProtK (µl)	100	200	300	400	500
Plazma (ml)	1	2	3	4	5
ACL (ml)	0,8	1,6	2,4	3,2	4

2. Kapağı kapatın 5 x 2 sn boyunca puls vorteksleme ile karıştırın.

Tüpte görünür bir vorteks oluştuğundan emin olun. Verimli lizisin sağlanması için örnek ve Buffer ACL'nin homojen bir solüsyon verecek şekilde iyice karıştırılması gerekir.

**Not:** Bu süreçte prosedürü kesmeyin. Lizis inkübasyonunu başlatmak için hemen adım 3'e geçin.

3. 56°C'de ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) 15 ( $\pm 1$ ) dakika boyunca inkübe edin.
4. Tüpü yeniden laboratuvar tezgahına yerleştirin ve kapağın vidasını açın.
5. Tüpteki lizata Buffer ACB ekleyin. Adım 1'deki kurulumla göre hacmi seçin.

Ayar	A	B	C	D	E
ACB (ml)	1,8	3,6	5,4	7,2	9

6. Kapağı kapatın 5 x 2 sn boyunca puls vorteksleme ile iyice karıştırın.

Tüpte görünür bir vorteks oluştuğundan emin olun. Verimli lizisin sağlanması için lizat ve Buffer ACB'nin homojen bir solüsyon verecek şekilde iyice karıştırılması gerekir.

7. Tüpteki lizat-Buffer ACB karışımını 5 ( $\pm 1$ ) dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.
8. QIAamp Mini kolonunu QIAvac 24 Plus üzerindeki VacConnector içine yerleştirin (bakınız, "QIAvac 24 Plus vacuum manifold kurulumu", sayfa 21). Açık QIAamp Mini kolonuna 20 ml kolon uzatıcı yerleştirin.

Örneğin sızmasını önlemek için kolon uzatıcısının QIAamp Mini kolonu içine sıkı bir şekilde yerleştirildiğinden emin olun.

**Not:** Yıkama tüpünü adım 13'teki döndürerek kurutma için tutun.

9. Adım 7'deki lizati QIAamp Mini kolonunun kolon uzatıcısına dikkatlice uygulayın. Vakum pompasını açın. Tüm lizatlar kolonlar içinden tamamen çekildiğinde, vakum pompasını kapatın ve basıncı 0 mbar'a getirin. Kolon uzatıcısı dikkatlice çıkarın ve atın. Büyük örnek lizati hacimlerinde (5 ml örnek ile başladığında yaklaşık 18 ml), vakum kuvveti ile QIAamp Mini membranı içinden geçişin maks. 20 dakika alabileceğini lütfen unutmayın.

Vakum basıncının hızlı ve uygun şekilde bırakılması için Vacuum Regulator (QIAvac Connecting System'in bir parçası) kullanılmalıdır.

**Not:** Çapraz kontaminasyonu önlemek için, kolon uzatıcıları çıkarırken QIAamp Mini kolonlarını çarpmamaya-yan yana getirmemeye dikkat edin.

10. QIAamp Mini kolonuna 600 µl Buffer ACW1 ekleyin. Kolon kapağını açık bırakın ve vakum pompasını açın. Buffer ACW1'in tamamı QIAamp Mini kolonu içinden çekildikten sonra, vakum pompasını kapatın ve basıncı 0 mbar'a getirin.
11. QIAamp Mini kolonuna 750 µl Buffer ACW2 ekleyin. Kolon kapağını açık bırakın ve vakum pompasını açın. Buffer ACW2'in tamamı QIAamp Mini kolonu içinden çekildikten sonra, vakum pompasını kapatın ve basıncı 0 mbar'a getirin.
12. QIAamp Mini kolonuna 750 µl etanol (%96-100) ekleyin. Kolon kapağını açık bırakın ve vakum pompasını açın. Etanolün tamamı döndürme kolonu içinden çekildikten sonra, vakum pompasını kapatın ve basıncı 0 mbar'a getirin.
13. QIAamp Mini kolonunun kapağını kapatın. Vakum manifoldundan çıkarın ve VacConnector'u atın. QIAamp Mini kolonunu temiz bir 2 ml yıkama tüpüne (adım 8) yerleştirin ve 3 ( $\pm 0,5$ ) dakika boyunca tam hızda (yaklaşık 20.000 x g veya 14.000 rpm) santrifüjleyin.
14. QIAamp Mini kolonunu yeni bir 2 ml yıkama tüpüne yerleştirin. Membranı tamamen kurutmak için kapağı açın ve düzeneği 3 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edin.



15. QIAamp Mini kolonunu temiz bir 1,5 ml elüsyon tüpüne (sağlanmış) yerleştirin ve adım 14'teki 2 ml yıkama tüpünü atın. QIAamp Mini kolon membranının ortasına 20-150 µl Buffer AVE'yi dikkatlice uygulayın. Kapağı kapatın ve oda sıcaklığında 3 ( $\pm 0,5$ ) dakika boyunca inkübe edin.

**Önemli:** Elüsyon Buffer AVE tamponunun oda sıcaklığına (15-25°C) dengelendiğinden emin olun. Elüsyon küçük hacimlerde (<50 µl) yapılıyorsa bağlanmış nükleik asitlerin tam elüsyonu için elüsyon tamponu membranın ortasına dağıtılmalıdır.

Elüsyon hacmi esnek ve aşağı akışlı uygulamaların gereksinimlerine göre uyarlanabilir.

Daha küçük hacimde Buffer AVE ile elüsyon daha yüksek nükleik asit konsantrasyonlarına neden olabilir; ancak daha düşük toplam verim ile sonuçlanır.

Geri kazanılan elüat hacmi, QIAamp Mini kolonu membranına uygulanan elüsyon hacminden maks. 5 µl daha az olabilir.

**Not:** Beklenen düşük nükleik asit verimleri için, elüsyonda düşük bağlanmalı bir tüp (sağlanmamıştır) kullanılması önerilir.

16. Nükleik asitleri elüe etmek için tam hızda (yaklaşık 20.000 x g; 14.000 rpm) 1 dakika boyunca bir mikrosantrifüj içinde santrifüjleme yapın.

**Not:** Elüsyon tüpü kapaklarını, rotorun dönüş yönünün tersine bakacak şekilde yerleştirin (örneğin rotor saat yönünde dönüyorsa kapakları saat yönünün tersine yerleştirilir).

# Klasik Protokol: Dolaşan Nükleik Asitleri 1-5 ml İnsan Kan Plazmasından Saflaştırma

Bu protokol, örneğin 1-5 ml insan plazma için mevcut kullanıcı için valide edilmiş iş akışları ile kullanıma yönelik *QIAamp DSP Circulating NA Kit El Kitabı*, Revizyon 3 (R3) belgesindeki değişiklik yapılmamış protokolü teşkil eder.

## Başlamadan önce önemli noktalar

- Tüm santrifüjleme adımları oda sıcaklığında (15-25°C) gerçekleştirilir.
- Protokol adımları boyunca tutarlı ve eşit vakum uygulandığından emin olmak için vakumu adımlar arasında kapatın.  
**Not:** Vacuum Pump basıncı -800 ile -900 mbar arasında olmalıdır.
- Örnekleri oda sıcaklığına dengeleyin.
- Örnek hacmini en yakın tam hacme (1 ila 5 ml) getirmek için PBS kullanın.
- QIAvac 24 Plus kurulumunu sayfa 21'de açıklandığı şekilde yapın.
- Adım 3'te 50 ml santrifüj tüpleri ile kullanılmak üzere bir su banyosunu veya ısıtma bloğunu 60°C'ye ısıtın.
- Adım 14'te 2 ml yıkama tüpleri ile kullanılmak üzere bir ısıtma bloğunu 56°C'ye ısıtın.
- QIAamp Mini döndürme kolonlarını kullanmadan önce en az 1 saat boyunca oda sıcaklığına dengeleyin.
- Buffer ACB, Buffer ACW1 ve Buffer ACW2'nin sayfa 26'daki talimatlara göre hazırlandığından (izopropanol veya etanol eklemesi) emin olun.
- Buffer AVE içinde sulandırılmış taşıyıcı RNA'yı Tablo 4'teki talimatlara göre Buffer ACL'ye ekleyin.

**Tablo 4. 1-5 ml insan kan plazma örneklerini işlemek için gereken Buffer ACL ve taşıyıcı RNA (Buffer AVE içinde çözündürülmüş) hacmi**

ml plazma için ayar	A	B	C	D	E	
	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	
Örnek sayısı	Buffer ACL (ml)					Buffer AVE içindeki taşıyıcı RNA (µl)
1	0,9	1,8	2,6	3,5	4,4	5,6
2	1,8	3,5	5,3	7,0	8,8	11,3
3	2,6	5,3	7,9	10,6	13,2	16,9
4	3,5	7,0	10,6	14,1	17,6	22,5
5	4,4	8,8	13,2	17,6	22,0	28,1
6	5,3	10,6	15,8	21,1	26,4	33,8
7	6,2	12,3	18,5	24,6	30,8	39,4
8	7,0	14,1	21,1	28,2	35,2	45,0
9	7,9	15,8	23,8	31,7	39,6	50,6
10	8,8	17,6	26,4	35,2	44,0	56,3
11	9,7	19,4	29,0	38,7	48,4	61,9
12	10,6	21,1	31,7	42,2	52,8	67,5
13	11,4	22,9	34,3	45,8	57,2	73,1
14	12,3	24,6	37,0	49,3	61,6	78,8
15	13,2	26,4	39,6	52,8	66,0	84,4
16	14,1	28,2	42,2	56,3	70,4	90,0
17	15,0	29,9	44,9	59,8	74,8	95,6
18	15,8	31,7	47,5	63,4	79,2	101,3
19	16,7	33,4	50,2	66,9	83,6	106,9
20	17,6	35,2	52,8	70,4	88,0	112,5
21	18,5	37,0	55,4	73,9	92,4	118,1
22	19,4	38,7	58,1	77,4	96,8	123,8
23	20,2	40,5	60,7	81,0	101,2	129,4
24	21,1	42,2	63,4	84,5	105,6	135,0

## Prosedür: Klasik Protokol

1. Bu siparişte QIAGEN Proteinase K, plazma ve Buffer ACL'yi bir 50 ml santrifüj tüpü (verilmemiştir) içine pipetleyin.

Ayar	A	B	C	D	E
ProtK (µl)	100	200	300	400	500
Plazma (ml)	1	2	3	4	5
ACL (ml)	0,8	1,6	2,4	3,2	4

2. Kapağı kapatın ve 30 sn boyunca puls vorteksleme ile karıştırın.

Tüpte görünür bir vorteks oluştuğundan emin olun. Verimli lizisin sağlanması için örnek ve Buffer ACL'nin homojen bir solüsyon verecek şekilde iyice karıştırılması gerekir.

**Not:** Bu süreçte prosedürü kesmeyin. Lizis inkübasyonunu başlatmak için hemen adım 3'e geçin.

3. 60°C'de ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) 30 ( $\pm 2$ ) dakika boyunca inkübe edin.
4. Tüpü yeniden laboratuvar tezgahına yerleştirin ve kapağın vidasını açın.
5. Tüpteki lizata Buffer ACB ekleyin. Adım 1'deki kurulumla göre hacmi seçin.

Ayar	A	B	C	D	E
ACB (ml)	1,8	3,6	5,4	7,2	9

6. Kapağı kapatın ve 30 sn boyunca puls vorteksleme ile iyice karıştırın.

Tüpte görünür bir vorteks oluştuğundan emin olun. Verimli lizisin sağlanması için lizat ve Buffer ACB'nin homojen bir solüsyon verecek şekilde iyice karıştırılması gerekir.

7. Tüpteki lizat-Buffer ACB karışımını 5 ( $\pm 1$ ) dakika boyunca buz üzerinde inkübe edin.
8. QIAamp Mini kolonunu QIAvac 24 Plus üzerindeki VacConnector içine yerleştirin (bakınız, "QIAvac 24 Plus vacuum manifold kurulumu", sayfa 21). Açık QIAamp Mini kolonuna 20 ml kolon uzatıcı yerleştirin.

Örneğin sızmasını önlemek için kolon uzatıcısının QIAamp Mini kolonu içine sıkı bir şekilde yerleştirildiğinden emin olun.

**Not:** Yıkama tüpünü adım 13'teki döndürerek kurutma için tutun.

9. Adım 7'deki lizati QIAamp Mini kolonunun kolon uzatıcısına dikkatlice uygulayın. Vakum pompasını açarak -800 ila -900 mbar'lık bir basınç uygulayın. Tüm lizatlar kolonlar içinden tamamen çekildiğinde, vakum pompasını kapatın ve basıncı 0 mbar'a getirin. Kolon uzatıcıyı dikkatlice çıkarın ve atın.

Büyük örnek lizati hacimlerinde (5 ml örnek ile başlandığında yaklaşık 18 ml), vakum kuvveti ile QIAamp Mini membranı içinden geçişin maks. 20 dakika alabileceğini lütfen unutmayın.

Vakum basıncının hızlı ve uygun şekilde bırakılması için Vacuum Regulator (QIAvac Connecting System'in bir parçası) kullanılmalıdır.

**Not:** Çapraz kontaminasyonu önlemek için, kolon uzatıcıları çıkarırken QIAamp Mini kolonlarını çarpmamaya-yan yana getirmemeye dikkat edin.

10. QIAamp Mini kolonuna 600 µl Buffer ACW1 ekleyin. Kolon kapağını açık bırakın ve vakum pompasını açın. Buffer ACW1'in tamamı QIAamp Mini kolonu içinden çekildikten sonra, vakum pompasını kapatın ve basıncı 0 mbar'a getirin.
11. QIAamp Mini kolonuna 750 µl Buffer ACW2 ekleyin. Kolon kapağını açık bırakın ve vakum pompasını açın. Buffer ACW2'in tamamı QIAamp Mini kolonu içinden çekildikten sonra, vakum pompasını kapatın ve basıncı 0 mbar'a getirin.
12. QIAamp Mini kolonuna 750 µl etanol (%96-100) ekleyin. Kolon kapağını açık bırakın ve vakum pompasını açın. Etanolün tamamı döndürme kolonu içinden çekildikten sonra, vakum pompasını kapatın ve basıncı 0 mbar'a getirin.
13. QIAamp Mini kolonunun kapağını kapatın. Vakum manifoldundan çıkarın ve VacConnector'u atın. QIAamp Mini kolonunu temiz bir 2 ml yıkama tüpüne (adım 8) yerleştirin ve 3 ( $\pm 0,5$ ) dakika boyunca tam hızda (yaklaşık 20.000 x g veya 14.000 rpm) santrifüjleyin.

14. QIAamp Mini kolonunu yeni bir 2 ml yıkama tüpüne yerleştirin. Membranı tamamen kurutmak için kapağı açın ve düzeneği 10 ( $\pm$ 1) dakika boyunca 56°C'de ( $\pm$ 1°C) inkübe edin.
15. QIAamp Mini kolonunu temiz bir 1,5 ml elüsyon tüpüne (sağlanmış) yerleştirin ve adım 13'teki 2 ml yıkama tüpünü atın. QIAamp Mini kolon membranının ortasına 20-150  $\mu$ l Buffer AVE'yi dikkatlice uygulayın. Kapağı kapatın ve oda sıcaklığında 3 ( $\pm$ 0,5) dakika boyunca inkübe edin.

**Önemli:** Elüsyon Buffer AVE tamponunun oda sıcaklığına (15-25°C) dengelendiğinden emin olun. Elüsyon küçük hacimlerde (<50  $\mu$ l) yapılıyorsa bağlanmış nükleik asitlerin tam elüsyonu için elüsyon tamponu membranın ortasına dağıtılmalıdır.

Elüsyon hacmi esneklik ve aşağı akışlı uygulamaların gereksinimlerine göre uyarlanabilir.

Daha küçük hacimde Buffer AVE ile elüsyon daha yüksek nükleik asit konsantrasyonlarına neden olabilir; ancak daha düşük toplam verim ile sonuçlanır. Geri kazanılan elüat hacmi, QIAamp Mini kolonuna uygulanan elüsyon hacminden maks. 5  $\mu$ l daha az olabilir.

**Not:** Beklenen düşük nükleik asit verimleri için, elüsyonda düşük bağlanmalı bir tüp (sağlanmamıştır) kullanılması önerilir.

16. Nükleik asitleri elüe etmek için tam hızda (yaklaşık 20.000 x g; 14.000 rpm) 1 dakika boyunca bir mikrosantrifüj içinde santrifüjleme yapın.

**Not:** Elüsyon tüpü kapaklarını, rotorun dönüş yönünün tersine bakacak şekilde yerleştirin (örneğin rotor saat yönünde dönüyorsa kapakları saat yönünün tersine yerleştirilir).

# Kalite Kontrol

QIAGEN'in ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca her QIAamp DSP Circulating NA Kit lotu tutarlı ürün kalitesi sağlamak üzere önceden belirlenmiş spesifikasyonlara göre test edilir.

## Sınırlamalar

Dolaşan hücre dışı nükleik asitlerin sistem performansı, aşağıdaki Kan Toplama Tüplerinden oluşturulan insan plazma örnekleri kullanılarak belirlenmiştir:

- K2-EDTA (Beckton Dickinson and Company, kat. no. 367525)
- PAXgene® Blood ccfDNA Tube (PreAnalytiX, kat. no. 768115)
- Cell-Free DNA BCT (Streck, kat. no. 218962)

QIAGEN performans çalışmaları kapsamında olmayan laboratuvarlarında kullanılan herhangi bir prosedür için sistem performansının onaylanması kullanıcının sorumluluğundadır.

Tanıya yönelik 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) ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Test And Methodology kılavuzları önerilir.

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

# Performans Özellikleri

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



# Referanslar

1. Sambrook, J. and Russell, D.W. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
2. Levy, B. (2019) *Prenatal Diagnosis*. *Methods in Molecular Biology*. 2nd ed. New York: Humana Press.
3. Hahn, S. and Zimmermann, B.G. (2010) Cell-free DNA in maternal plasma: has the size-distribution puzzle been solved? *Clin Chem*. **56**, 1210-1211.
4. Anfossi, S., Babayan, A., Pantel, K., and Calin, G. (2018) Clinical utility of circulating non-coding RNAs - an update. *Nat Rev Clin Oncol* **15**, 541-563.
5. Babayan, A. and Pantel, K. (2018) Advances in liquid biopsy approaches for early detection and monitoring of cancer. *Genome Med* **10**, 21.
6. Terrinoni, A., et al (2019) The circulating miRNAs as diagnostic and prognostic markers. *Clin Chem Lab Med*. 57, 932-953.

# Sorun Giderme Kılavuzu

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

## Yorumlar ve öneriler

### Elüat içinde çok az nükleik asit var veya hiç nükleik asit yok

- |    |  |  |
|----|--|--|
| a) | Stabilize edilmemiş plazma kullanımı                       | Stabilize edilmemiş plazma örnekleri hızlandırılmış DNA degradasyonuna neden olabilir. CEN/TS 16835-3:2015'i izlemenizi öneririz. Safaştırma prosedürünü yeni örneklerle tekrarlayın.  |
| b) | Kan alma ve plazma hazırlama arasında uzun süre            | Çekirdekli kan hücreleri genomik DNA'yı parçalara ayırarak plazmada serbest bırakabilir ve hedef nükleik asidi seyreltebilir.  |
| c) | Örnekler birden fazla kez dondurulup çözündürülmüş         | DNA degradasyonuna yol açabileceğinden tekrarlanan dondurma ve çözündürme işlemlerinden kaçınılmalıdır. Her zaman taze veya yalnızca bir kez çözündürülmüş örnekler kullanın.  |
| d) | Örneklerde düşük konsantrasyonda hedef DNA                 | Plazma örnekleri oda sıcaklığında çok uzun süre bırakılmıştır. Safaştırma prosedürünü yeni örneklerle tekrarlayın.<br><b>Not:</b> Bazı kişilerde plazmada düşük hücre dışı NA konsantrasyonu bulunabilir; burada yüksek bir örnek hacmi ve düşük bir elüat hacmi seçilmelidir. |
| e) | Buffer ACL'de yetersiz örnek lizisi                        | QIAGEN Proteinase K uzun süre yüksek sıcaklığa tabi tutulursa aktivitesini kaybedebilir. Prosedürü yeni örnekler ve taze QIAGEN Proteinase K kullanarak tekrarlayın.   |
| f) | Buffer ACL-taşıyıcı RNA karışımı iyice karışmamış          | Buffer ACL-taşıyıcı RNA tüpünü en az 10 kez yavaşça ters çevrilmesi ile Buffer ACL'yi taşıyıcı RNA ile karıştırın.   |
| g) | %96-100 yerine düşük yüzdeli etanol kullanılmıştır         | Safaştırma işlemini yeni örneklerle ve %96-100 etanol ile tekrarlayın. Metanol veya metiletilketon gibi başka maddeler içeren denatüre alkol kullanmayın.  |
| h) | Buffer ACB yanlış hazırlanmıştır                           | Buffer ACB konsantrasyonunun doğru hacimde izopropanol (etanol değil, bakınız sayfa 26) ile sulandırıldığından emin olun.  |
| i) | Buffer ACW1 veya Buffer ACW2 yanlış hazırlanmıştır         | Buffer ACW1 ve Buffer ACW2 konsantrasyonlarının doğru hacimde etanol (bakınız sayfa 26) ile seyreltiltiğinden emin olun. Safaştırma prosedürünü yeni örneklerle tekrarlayın.   |
| j) | Buffer ACW1 veya Buffer ACW2 %70 etanol ile hazırlanmıştır | Buffer ACW1 ve Buffer ACW2 konsantrasyonlarının %96-100 etanol (bakınız sayfa 26) ile seyreltiltiğinden emin olun. Safaştırma prosedürünü yeni örneklerle tekrarlayın.   |

## Yorumlar ve öneriler

### DNA veya RNA, aşağı akışlı uygulamalarda iyi performans göstermiyor

- a) Elüat içinde çok az DNA var veya hiç DNA yok
- Olası nedenler için yukarıdaki Elüat içinde çok az nükleik asit var veya hiç nükleik asit yok kısmına bakın. Mümkünse reaksiyona eklenen elüat miktarını artırın.
- b) Uygun olmayan elüsyon hacmi kullanılmıştır
- Aşağı akışlı uygulamanız için uygun olan maksimum elüat hacmini belirleyin. Aşağı akışlı uygulamaya eklenen elüat hacmini uygun şekilde artırın veya azaltın. Elüsyon hacmi oransal olarak uyarlanabilir.
- Not:** Daha küçük hacimde Buffer AVE ile elüsyon daha yüksek nükleik asit konsantrasyonlarına neden olabilir; ancak daha düşük toplam verim ile sonuçlanır.
- c) Tamponlar iyice karışmamıştır
- Yıkama Buffer ACW2'nin tuz ve etanol bileşikleri çalışmalar arasında çok uzun süre bekledikten sonra ayrılmış olabilir. Tamponları her çalışmadan önce iyice karıştırın.
- d) Taşıyıcı RNA nedeniyle interferans
- Elüat içinde taşıyıcı RNA bulunması aşağı akışlı enzimatik reaksiyona müdahale eder, bu durumda taşıyıcı RNA miktarını düşürmek veya bunu tamamen çıkarmak gerekebilir.

### Genel kullanım

- a) Tıkanmış QIAamp Mini kolonu
- Akış oranı azalırsa vakum süresi uzayabilir.
- Alternatif olarak, kullanılıyorsa VacValve'yi kapatın ve kolon uzatıcı–VacConnector–VacValve düzeneğini QIAamp Mini kolonundan kolon uzatıcısındaki hiçbir lizati kaybetmeden çıkarın.
- QIAamp Mini kolonunu vakum manifoldundan çıkarın, 2 ml yıkama tüpüne yerleştirin ve örnek membran içinden tamamen geçene kadar tam hızda döndürün. Kalan lizati bulunan kolon uzatıcı–VacConnector–VacValve düzeneğini değiştirin. Vakum pompasını açın, VacValve'yi açın ve kalan lizati yüklemeye devam edin.
- QIAamp Mini Kolonu tıkanmaya devam ederse yukarıdaki prosedürü tekrarlayın.
- Tekrarlı dondurma ve çözdüme nedeniyle plazmada kriyopresipitatlar meydana gelmiş olabilir. Bunlar QIAamp Mini kolonunu tıkayabilir. Birden fazla kez dondurulup çözündürülmüş plazmayı kullanmayın.
- Kriyopresipitatlar görünüyorsa, örneği 16.000 x g'de 5 dakika santrifüjleme ile temizleyin.
- b) Değişken elüsyon hacimleri
- Farklı örnekler nihai elüatın hacmini etkileyebilir. Geri kazanılan elüat hacmi, QIAamp Mini kolonuna uygulanan elüsyon hacminden maks. 5 µl daha az olabilir.

## Yorumlar ve öneriler

- c) -800 ila -900 mbar'lık vakum basıncına ulaşamamıştır

Vakum manifoldu tam kapanmamıştır. Vakum çalıştırıldıktan sonra vakum manifoldunun kapağına bastırın. Vakum basıncına ulaşıp ulaşılmadığını kontrol edin.

QIAvac kapağı contası aşınmıştır. Manifold mührünü görsel olarak kontrol edin ve gerekiyorsa değiştirin.










VacValves aşınmıştır. Tüm VacValves'leri çıkarın ve VacConnectors'leri doğrudan luer uzantılarına yerleştirin. QIAamp Mini kolonlarını VacConnectors içine yerleştirin, kolonların kapağını kapatın ve vakumu çalıştırın. Vakum basıncına ulaşıp ulaşılmadığını kontrol edin. Gerekiyorsa VacValves değişimi yapın.

Vakum pompası bağlantısı sızıntı yapmaktadır. Luer kapakları olan tüm luer uzantılarını kapatarak vakum pompasını çalıştırın. Pompa açıldıktan (ve Vacuum Regulator valfi kapatıldıktan) sonra vakum basıncının stabil olup olmadığını kontrol edin. Gerekiyorsa pompa ile vakum manifoldu arasındaki bağlantıları değiştirin.

Vakum basıncına halen ulaşılmamışsa vakum pompasını daha güçlü olanı ile değiştirin.

# Semboller

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

Sembol	Sembol tanımı
 <N>	<N> reaksiyon için yeterli reaktif içerir
	Son kullanma tarihi
	Bu ürün, in vitro tanı amaçlı tıbbi cihazlar için Avrupa Yönetmeliği 2017/746'nın gerekliliklerini karşılamaktadır.
	İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Katalog numarası
	Lot numarası
	Materyal numarası (yani bileşen etiketlemesi)
	Bileşenler
	İçerik
	Numara
	Küresel Ticaret Parça Numarası

## Sembol

## Sembol tanımı

Rn

R, Kullanım Talimatı revizyonudur; n ise revizyon numarasıdır



Sıcaklık sınırlaması



Üretici



Kullanma talimatlarına bakın



Güneş ışığından uzak tutun



Uyarı/dikkat



Gelince



Teslim edildikten sonra QIAamp Mini Döndürme kolonlarını 2-8°C'de saklayın



Hacim



Ekleme

## Sembol

## Sembol tanımı



Şişeye etanol ekledikten sonra geçerli tarihi yazın

**EtOH**

Etanol



Şişeye izopropanol ekledikten sonra geçerli tarihi yazın

**IPA**

İzopropanol

→

Şuna neden olur

**GITC**

Guanidin tiyosiyanat

**GuHCl**

Guanidin hidroklorür

**BRIJ 58**

BRIJ 58

**PROTK**

Proteinaz K

**UDI**

Benzersiz cihaz tanımlayıcı

# Ek A: Kan Plazma Ayırma ve Saklama için Öneriler

Kan toplama tüplerinin (örneğin PAXgene ccfDNA Tube veya Streck Cell-Free DNA Tube) stabilizasyonu için, lütfen plazma ayırma ve saklamaya dair üretici talimatlarını izleyin. Bu saklama koşullarını özel aşağı akışlı uygulamanız ve hedefiniz ile birlikte valide edilmesini öneririz.

Stabilize edilmemiş BCT için aşağıdaki standartları izlemenizi öneririz: ISO 20186-3-2019 Moleküler in vitro diyagnostik tetkikler - Venöz tam kan için tetkik öncesi süreçlere yönelik spesifikasyonlar - Bölüm 3: Plazmadan izole dolaşımli hücresiz DNA CEN/TS 17742 - Venöz tam kan için tetkik öncesi süreçlere yönelik spesifikasyonlar - Plazmadan izole dolaşımli hücresiz RNA

Dolaşan hücre dışı nükleik asitleri kan örneklerinden izole etmek için, hücresel kalıntıları gidermek için yüksek g kuvvetinde bir santrifüjleme adım içeren ve böylece örnekteki hücresel veya genomik DNA ve RNA miktarını azaltan bu protokolü izlemenizi öneririz.

1. Dışarı doğru açılır rotoru ve uygun kovaları bulunan, 4°C'ye soğutulmuş bir santrifüj içine BD Vacutainer® tüpleri (veya bir antikoagülan olarak EDTA içeren diğer birincil kan tüpleri) içine tam EDTA Kanı yerleştirin.
2. Kan örneklerini 1900 x g (3000 rpm) hızında 4°C'de 10 dakika santrifüjleyin.
3. Plazma-hücresel arayüz katmanına zarar vermeden plazma süpernatantını dikkatlice aspire edin. Bir adet 10 ml'lik birincil kan tüpünden yaklaşık 4-5 ml plazma elde edilebilir.



**Not:** Plazma bu aşamada dolaşan nükleik asit ekstraksiyonu için kullanılabilir. Ancak, aşağıdaki yüksek hızda santrifüjleme, ek hücresel kalıntıları ve dolaşan nükleik asitlerin hasarlı çekirdekli kan hücrelerinden elde edilen genomik DNA ve RNA ile kontaminasyonunu ortadan kaldıracaktır.

4. Aspire edilmiş plazma taze bir santrifüj tüpüne aktarılır.
5. Plazma örneklerini 4°C'de 16.000 x g'de (sabit açılı rotor) 10 dakika santrifüjleyin.  
Bu işlem, hücre kalıntısına bağlı ek hücresel nükleik asitleri giderecektir.
6. Süpernatanı dikkatlice çıkarın ve pelete zarar vermeden yeni bir tüpe aktarın.
7. Plazma aynı gün nükleik asit ekstraksiyonu için kullanılacaksa, plazmayı sonraki işlemlere kadar 2-8°C'de saklayın. Daha uzun saklama için, stabilize edilmiş ve edilmemiş kan toplama tüplerinden alınan plazma alikotları -20°C'de (hedef olarak DNA) veya -80°C'de (hedef olarak RNA) en az 4 hafta saklanabilir. Dolaşan nükleik asit ekstraksiyonu için plazmayı kullanmadan önce plazma tüplerini oda sıcaklığında eritin.
8. **İsteğe bağlı:** Kriyopresipitatları gidermek için, plazma örneklerini 16.000 x g'de (sabit açılı rotor) 5 dakika santrifüjleyin.  
**İsteğe bağlı:** Süpernatanı yeni bir tüpe aktarın ve ardından dolaşan nükleik asit ekstraksiyonu protokolüne başlayın.

# Ek B: RNA Kullanımıyla İlgili Genel Notlar

## RNA Kullanımı

Ribonükleazlar (RNazlar) genel olarak çalışmak için kofaktörler gerektirmeyen oldukça stabil ve aktif enzimlerdir. RNazların inaktivasyonu zor olduğundan ve RNA'nın imha edilmesi için çok az miktarlar bile yeterli olduğundan önce RNaz kontaminasyonu olasılığını ortadan kaldırmadan herhangi bir plastik veya cam malzeme kullanmayın. Saflaştırma prosedürü sırasında veya sonrasında RNA örneğine RNazları istemeden sokmamak için çok dikkatli olunmalıdır. RNaz içermeyen bir ortam oluşturmak ve sürdürmek için RNA ile çalışırken tek kullanımlık olan ve olmayan kaplar ve solüsyonların ön işleme ve kullanımı sırasında aşağıdaki önlemler alınmalıdır.

## Genel kullanım

RNA ile çalışırken daima uygun mikrobiyolojik aseptik teknik kullanılmalıdır. Eller ve toz partikülleri bakteri ve küf taşıyabilir ve RNaz kontaminasyonunun en sık görülen kaynaklarıdır. Cilt yüzeyinden veya tozlu laboratuvar ekipmanından RNaz kontaminasyonunu önlemek için reaktifler ve RNA örneklerinin kullanımı sırasında daima lateks veya vinil eldivenler kullanın. Eldivenleri sık sık değiştirin ve tüpleri mümkün olduğunca kapalı tutun. Alikotlar aşağı yönde uygulamalar için pipetlendiğinde saflaştırılmış RNA'yı buz üzerinde tutun.

## Tek kullanımlık plastik malzemeler

Prosedür boyunca steril, RNaz içermeyen, tek kullanımlık polipropilen tüpler kullanılması önerilir.

# Sipariş Bilgileri

Ürün	İçerik	Kat. no.
QIAamp DSP Circulating NA Kit (50)	50 hazırlama için: QIAamp Mini columns, Column Extenders, VacConnectors, QIAGEN Proteinase K, Reagents, Buffers, and collection tubes (QIAamp Mini kolonları, Kolon Uzaticılar, VacConnector'lar, QIAGEN Proteinase K, Reaktifler, Tamponlar ve toplama tüpleri)	61504
<b>Aksesuarlar</b>		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	1-24 döndürme kolonu işlemek için vakum manifoldu: QIAvac 24 Plus Vacuum manifold, Luer Plugs, and Quick Couplings (QIAvac 24 Plus Vacuum manifold, Luer Tapalar, Hızlı Bağlantı Elemanları)	19413
Vacuum Pump*	Evrensel vakum pompası	84010 [ABD ve Kanada] 84000 [Japonya] 84020 [dünyanın geri kalanı]
QIAvac Connecting System*	Vakum manifoldunu vakum pompasına bağlamak için sistem: Tepsi, Atık Şişeleri, Tüpler, Bağlantı Elemanları, Valf, Ölçüm İğnesi ve 24 VacValves içerir.	19419

\* Vakum protokolleri ile kullanım içindir.

Güncel lisanslama bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisleri veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

# Belge Revizyon GemiŖi

## Revizyon

## Açıklama

R1, Haziran 2022

IVDR Kit Sürüm 2 yayını, Kit Sürümü 1'e göre protokollerde veya performans verilerinde deęiŖiklik yok; kullanım amacına "manuel" izolasyon eklendi; ufak güncellemeler ve düzeltmeler

Bu sayfa özellikle boş bırakılmıştır

Bu sayfa özellikle boş bırakılmıştır

#### QIAamp DSP Circulating NA Kit için Sınırlı Lisans Sözleşmesi

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

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

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

Ticari Markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, (QIAGEN Group); Agilent® (Agilent Technologies, Inc.); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); PAXgene® (PreAnalytix GmbH); Tween™ (ICI Americas Inc.). Bu belgede geçen tescilli adlar, ticari markalar vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalarda korunmaktadır.

Haz-2022 HB-3049-001 1127632 © 2022 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.



