

Bruksanvisning (håndbok) for QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit



Versjon 3

IVD

Til in vitro-diagnostisk bruk

Til bruk sammen med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

CE

REF

61104



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R1 **MAT**

1127543NB

Innhold

Tiltent bruk	4
Tiltent bruker.....	4
Beskrivelse og prinsipp.....	5
Lysering av blodceller	5
Binding av genomisk DNA til QIAamp Mini-spinnkolonnemembranen	5
Fjerne resterende kontaminanter.....	6
Eluere rent genomisk DNA	6
Utbytte og kvalitet på genomisk DNA	7
Automatisk rensing på QIAcube Connect MDx	7
Oppsummering og forklaring	10
Materialer som medfølger.....	11
Settets innhold.....	11
Komponenter i settet	12
Materialer som er nødvendige, men ikke følger med.....	13
Ekstra reagenser.....	13
Forbruksvarer	13
Utstyr	13
Kun for vakuumprosedyren	13
Kun for automatisk prosedyre.....	14
Advarsler og forholdsregler.....	15
Sikkerhetsinformasjon	15
Forholdsregler	16

Avfallshåndtering	17
Håndtering og oppbevaring av reagenser	18
Stabilitet under bruk.....	18
Prøvetaking, oppbevaring og håndtering av prøver	19
Viktige merknader	21
Viktige punkter før du starter en protokoll	21
Klargjøring av reagenser og buffere	22
Håndtere QIAamp Mini-spinnkolonner	23
Montere QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet	24
Prosedyre	26
Protokoll: Isolering og rensing av genomisk DNA fra blodprøvene ved hjelp av en mikrosentrifuge/automatisk rensing på QIAcube Connect MDx.....	26
Protokoll: Isolering og rensing av genomisk DNA fra blodprøvene ved bruk av et vakuumsystem	30
Kvalitetskontroll	34
Begrensninger	35
Ytelseegenskaper	36
Feilsøkningsveiledning	37
Symboler	40
Bestillingsinformasjon	43
Endringshistorikk for dokument	45

Tiltenkt bruk

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit er et system som bruker en silikamembranteknologi (QIAamp-teknologi) til isolasjon og rensing av genomisk DNA fra biologiske prøver.

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit er beregnet for bruk i forbindelse med in vitro-diagnostikk.

Tiltenkt bruker

Produktet er beregnet for bruk av profesjonelle brukere, for eksempel teknikere og leger som har fått opplæring i molekylærbiologiske teknikker.

Beskrivelse og prinsipp

Hver QIAamp DSP DNA Blood Mini-prosedyre består av 4 trinn:

- Lysere cellene i blodprøven
- Binde genomisk DNA i cellelysatet til membranen på en QIAamp Mini-spinnkolonne
- Vaske membranen
- Eluere genomisk DNA fra membranen

Denne håndboken inneholder protokoller for 2 alternative QIAamp DSP DNA Blood Mini-prosedyrer: spinnprosedyren som krever en sentrifuge eller kan automatiseres på QIAcube® Connect MDx (figur 1), og vakuumprosedyren som krever en sentrifuge og et vakuumsystem (se flytskjemaet på side 9).

Lysering av blodceller

Prøver lyseres under denatureringsbetingelser ved økte temperaturer. Lysering utføres ved tilstedeværelse av QIAGEN® Protease (QP) og lyseringsbuffer (AL).

Binding av genomisk DNA til QIAamp Mini-spinnkolonnemembranen

For å optimalisere bindingen av genomisk DNA til QIAamp Mini-spinnkolonnemembranen tilsettes først etanol til lysatene. Hvert lysat påføres deretter en QIAamp Mini-spinnkolonne, og genomisk DNA adsorberes på silikamembranen etter hvert som lysatet trekkes gjennom ved vakuumtrykk eller sentrifugalkraft.

Fjerne resterende kontaminanter

Mens genomisk DNA holder seg bundet til QIAamp Mini-spinnkolonmembranen, vaskes kontaminantene effektivt bort, først ved hjelp av vaskebuffer 1 (AW1) og deretter vaskebuffer 2 (AW2).

Eluere rent genomisk DNA

Genomisk DNA elueres fra QIAamp Mini-spinnkolonmembranen ved bruk av 50–200 µl elusjonsbuffer (AE). Eluert DNA er klart for bruk i ulike nedstrømsanalyser, inkludert en rekke ulike in vitro-diagnostiske nedstrømsanalyser. Elusjonsbuffer (AE) skal ekvilibreres til romtemperatur (15–25 °C) før den tilføres kolonnen.

På grunn av gjenværende elusjonsbuffer i spinnkolonnenmembranen etter sentrifugering, kan eluatvolumet som gjenfinnes være lavere enn volumet av elusjonsbuffer (AE) som ble brukt på kolonnen. Eluatvolumet som gjenfinnes, avhenger av typen prøve. Eluert DNA tas i elusjonsrør (ET) og kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 4 uker. Ved langtidsoppbevaring anbefaler vi oppbevaring ved –20 °C.

Merk: Eluatstabilitet avhenger sterkt av ulike faktorer og er relatert til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Det er vurdert for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Det er brukerens ansvar å sjekke bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsapplikasjonen som brukes på det aktuelle laboratoriet, og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å etablere egnede oppbevaringsbetingelser.

Utbytte og kvalitet på genomisk DNA

DNA-utbytte avhenger av prøven og kvaliteten på utgangsmaterialet. Lavere elusjonsvolum øker den endelige DNA-konsentrasjonen i eluatet, men reduserer DNA-utbyttet noe. Vi anbefaler å bruke et elusjonsvolum egnet for den tiltenkte nedstrømsapplikasjonen.

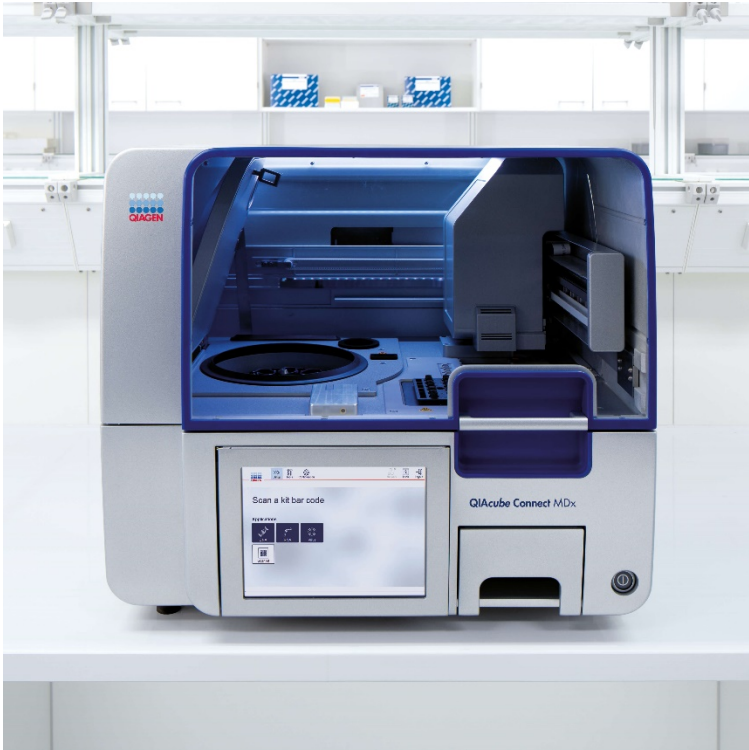
Utbyttet og kvaliteten på isolert genomisk DNA egner seg til nedstrømsdeteksjonsprosedyrer i molekylær diagnostikk, f.eks. PCR. Diagnostiske analyser skal utføres i henhold til produsentenes instruksjoner.

Automatisk rensing på QIAcube Connect MDx

QIAcube Connect MDx utfører automatisert isolering og rensing av nukleinsyrer. Det kan behandle opptil 12 prøver per enkeltkjøring.

Prøveklargjøring ved bruk av QIAcube Connect MDx følger de samme trinnene som den manuelle prosedyren (dvs. lysere, binde, vaske og eluere), slik at du kan fortsette å bruke QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit til rensing av DNA med høy kvalitet.

Hvis QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit automatiseres på QIAcube Connect MDx, kan det være instrumentet prosesserer færre enn 50 prøver på grunn av dødvolum, fordamping og ekstra reagensforbruk ved automatisert pipettering. QIAGEN garanterer kun 50 prøveklargjøringer ved manuell bruk av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



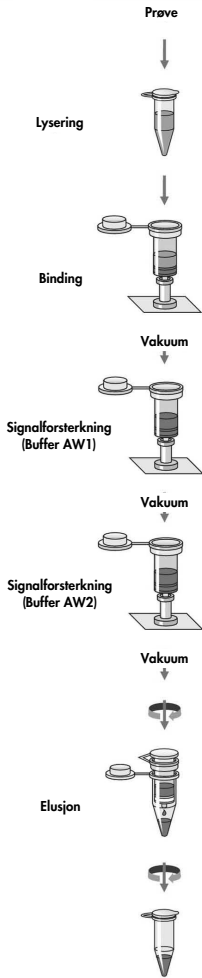
Figur 1. QIAcube Connect MDx.

Spinn- og vakuumprosedyrer med QIAamp DSP DNA Blood Mini

Spinnprosedyre for QIAamp



Vakuumprosedyre for QIAamp



Les protokollene (side 26 og 30) nøye før du begynner.

I LT tilsettes 20 µl QP, 200 µl prøve og 200 µl AL.
Roter i 15 sekunder
Inkuber i 10 minutter ved 56 °C.
Tilsett 200 µl etanol.
Roter i 15 sekunder.

Overfør lysat til QIAamp Mini-spinnkolonne..
Spinnprosedyre: Sentrifuger i 1 minutt ved 6000 x g.

Vakuumprosedyre: Påfør vakuumprosedyre.

Spinnprosedyre: Plasser QIAamp Mini-spinnkolonnen i ny WT, tilsett 500 µl AW1, og sentrifuger i 1 minutt ved 6000 x g.

Vakuumprosedyre: Tilsett 750 µl AW1, og påfør vakuumprosedyre.

Spinnprosedyre: Plasser QIAamp Mini-spinnkolonne i nytt WT, tilsett 500 µl AW2 og sentrifuger i 1 minutt ved full hastighet (ca. 20 000 x g eller 14 000 o/min).

Vakuumprosedyre: Tilsett 750 µl AW2, og påfør vakuumprosedyre.

Plasser QIAamp Mini-spinnkolonne i WT.

Sentrifuger i 3 minutter ved full hastighet (ca. 20 000 x g eller 14 000 o/min).

Plasser QIAamp Mini-spinnkolonne i ET.

Tilsett 50–200 µl AE, og inkuber i 1 minutt.

Sentrifuger i 1 minutt ved 6000 x g.

Oppsummering og forklaring

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit bruker veletablert teknologi til å isolere og rense genomisk DNA fra 200 µl fullblod på en rask og enkel måte.

QIAamp DSP DNA Blood Mini-prosedyrene, som er designet for simultan behandling av flere blodprøver, gir rent DNA som er klart til bruk. Prosedyrene egner seg for bruk med ferskt eller frossent fullblod og blod som har blitt behandlet med citrat eller EDTA.

Forhåndsseparering av leukocytter er ikke nødvendig. Prosedyrene krever verken fenol-/kloroformekstraksjon eller alkoholpresipitering, og de krever minimal interaksjon fra brukeren. Dette muliggjør sikker håndtering av potensielt smittefarlige prøver. Prosedyrene er utformet for å minimere krysskontaminering fra prøve til prøve. Renset DNA er klart til bruk i PCR eller andre applikasjoner, eller kan alternativt lagres ved -20°C til langtidsoppbevaring.

De enkle spinn- og vakuumprosedyrene til QIAamp DSP egner seg for simultan behandling av flere prøver. Noen av spinnprosedyrene til QIAamp kan helautomatiseres på QIAcube Connect MDx for økt standardisering og brukervennlighet (side 7).

Til vakuumprosedyreprotokollen kreves en vakuumanifold (f.eks. QIAvac 24 Plus med QIAvac Connecting System) og en vakuumpumpe som er i stand til å produsere et vakuum på cirka 800–900 mbar (f.eks. QIAGEN Vacuum Pump). En Vacuum Regulator bør brukes (en del av QIAvac Connecting System) for enkel overvåking av vakuumtrykk og praktisk vakuumløsning.

Materialer som medfølger

Settets innhold





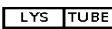
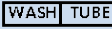
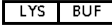






QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Katalognr.

61104

Antall klargjøringer

50

ID	Symboler	Antall
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (WT) (QIAamp Mini Spin Columns med vaskerør) (2 ml)	 50
ET	Elution Tubes (Elusjonrør) (1,5 ml)	  50
VC	VacConnectors	 50
LT	Lysis Tubes (Lyseringsrør) (1,5 ml)	 50
WT	Wash Tubes (Vaskerør) (2 ml)	 3 x 50
AL	Lysis Buffer* (Lyseringsbuffer*)	 12 ml
AW1	Wash Buffer 1 [†] (Vaskebuffer 1) (konsentrat)	 19 ml
AW2	Wash Buffer 2 [†] (Vaskebuffer 2) (konsentrat)	 13 ml
AE	Elution Buffer [†] (Elusjonsbuffer)	 25 ml
PS	Protease Solvent [†] (Proteaseløsning)	 2 ml
QP	QIAGEN Protease [§]	 1 hetteglass
-	Bruksanvisning (håndbok)	 1

* Hvis QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit automatiseres på QIAcube Connect MDx-instrumentet, kan det være at instrumentet prosesserer færre enn 50 prøver på grunn av dødvolum, fordamping og ekstra reagensforbruk ved automatisert pipettering. QIAGEN garanterer kun 50 prøveklargjøringer ved manuell bruk av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

[†] Inneholder guanidinhydroklorid. Ikke kompatibel med desinfeksjonsmidler som inneholder blekemiddel. Mer informasjon finnes under Sikkerhetsinformasjon på side 15.

[†] Inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

[§] Resuspensjonsvolum 1,2 ml. Se "Klargjøring av reagenser og buffere" på side 22.

Komponenter i settet

Settets hovedkomponenter med virkestoffer blir beskrevet nedenfor.

Reagens	Virkestoffer	Konsentrasjon (vekt/vekt) [%]
QIAGEN Protease	Subtilisin	≥ 0 til ≤ 100
AL	Guanidinhydroklorid	≥ 30 til < 50
	Maleinsyre	$\geq 0,1$ til < 1
AW1	Guanidinhydroklorid	≥ 50 til < 70

Materialer som er nødvendige, men ikke følger med

Ekstra reagenser

- Etanol (96–100 %) *

Forbruksvarer

- Pipetter[†] og pipettespisser (for å unngå krysskontaminering anbefaler vi på det sterkeste at det benyttes pipettespisser med aerosolbarrierer)
- Engangshansker

Utstyr

- Varmeblokk[†] for lysing av prøver ved 56 °C (for 1,5 ml mikrotestrør)
- Mikrosentrifuge[†]
- Målesylinder (50 ml)
- Vorteksblender

Kun for vakuumprosedyren

- QIAvac 24 Plus-vakuumsystem (kat.nr. 19413) eller tilsvarende[†]
- VacValves (kat.nr. 19408)
- QIAvac Connecting System (kat.nr. 19419)
- Vacuum Pump (kat.nr. 84020)
- Vacuum Regulator (kat.nr. 19530)

* Denaturert alkohol som inneholder andre stoffer, som metanol eller metyletylketon, må ikke brukes.

[†] For å sikre at prøvene behandles tilstrekkelig i QIAamp DSP DNA Blood Mini-prosedyrene, anbefaler vi på det sterkeste at instrumenter (f.eks. pipetter og varmeblokker) kontrolleres og kalibreres i henhold til produsentenes anbefalinger.

Kun for automatisk prosedyre

- QIAcube Connect MDx-instrument (kat.nr. 9003070) *
- Rotor Adapters (kat.nr. 990394)
- Rotor Adapter Holder (kat.nr. 990392)
- Sample Tubes CB (kat.nr. 990382; sample input tube)
- Shaker Rack Plugs (kat.nr. 9017854)
- Reagent Bottles, 30 ml (kat.nr. 990393)
- Filter Tips, 1000 μ l (kat.nr. 990352)
- Filter Tips, 200 μ l (kat.nr. 990332)
- SafeSeal Tube, 1,5 ml (Sarstedt®, kat.nr. 72.706)

* For å sikre at prøvene behandles tilstrekkelig i QIAamp DSP DNA Blood Mini-prosedyrene, anbefaler vi på det sterkeste at instrumenter (f.eks. pipetter og varmeblokker) kontrolleres og kalibreres i henhold til produsentenes anbefalinger.

Advarsler og forholdsregler


Vær oppmerksom på at alvorlige hendelser i forbindelse med bruken av utstyret muligens må rapporteres til produsenten og/eller deres autoriserte representant og den ansvarlige myndigheten i det landet hvor brukeren og/eller pasienten befinner seg.

Til in vitro-diagnostisk bruk.

Les alle instruksjonene nøye før du bruker settet.

Sikkerhetsinformasjon

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige i praktisk og kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety, der du kan søke etter, vise og skrive ut sikkerhetsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS) for hvert QIAGEN-sett og hver settkomponent.

<p>FORSIKTIG</p> 	<p>IKKE tilsett blekemidler eller sure løsninger direkte i prøveklargjøringsavfallet.</p>
--	---

- Lyseringsbuffer (AL) og vaskebuffer 1 (AW1) inneholder guanidinhydroklorid som kan danne svært reaktive forbindelser i kombinasjon med blekemiddel. Hvis du søler væske som inneholder disse bufferne, må du rengjøre med egnet laboratorievaskemiddel og vann. Hvis væsken som søles inneholder potensielt smittefarlige stoffer, må du først rengjøre det berørte området med laboratorievaskemiddel og vann, og deretter med 1 % (v/v) natriumhypokloritt. Hvis bufferflaskene er ødelagt eller lekket, må du bruke hansker og vernebriller når du kaster flaskene, for å unngå at du skader deg selv eller andre.

- QIAGEN har ikke testet væskeavfall som genereres av QIAamp DSP DNA Blood Mini-prosedyren, for rester av smittefarlig materiale. Kontaminering av væskeavfallet med resterende infeksjonsmateriale er usannsynlig, men kan ikke utelukkes helt. Væskeavfall må derfor anses som smittefarlig og håndteres og kastes i henhold til lokale sikkerhetsforskrifter.
- Prøvene er potensielt smittefarlige. Kast prøve- og analyseavfall i henhold til lokale sikkerhetsprosedyrer.

Nødsinformasjon

CHEMTREC

USA og Canada 1-800-424-9300

Utenfor USA og Canada +1 703-527-3887

Forholdsregler

Følgende fare- og sikkerhetssetninger gjelder for komponentene i QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Buffer AL



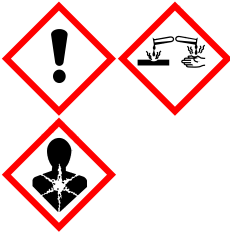
Inneholder: guanidinhydroklorid og maleinsyre. Advarsel! Kan være skadelig ved svelging eller innånding. Irriterer huden. Kan utløse en allergisk hudreaksjon. Forårsaker alvorlig øyeirritasjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. Ta kontakt med GIFTINFORMASJONEN eller lege hvis du føler deg uvel. Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp. Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt. Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsbehandlingssted.

Buffer AW1



Inneholder: guanidinhydroklorid. Advarsel! Farlig ved svelging eller innånding. Irriterer huden. Forårsaker alvorlig øyeirritasjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt. Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsbehandlingssted.

QIAGEN Protease



Inneholder: subtilisin. Fare! Skadelig ved svelging. Irriterer huden. Gir alvorlig øyeskade. Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. Kan føre til irriterte luftveier Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler. Benytt vernehansker/vernekler/vernebriller/ansiktsskjerm. Bruk åndedrettsvern. VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Ta umiddelbart kontakt med GIFTINFORMASJONEN eller lege. Flytt personen til frisk luft, og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet.

Avfallshåndtering

Avfallet inneholder prøver og reagenser. Dette avfallet kan inneholde giftig eller smittefarlig materiale og må kasseres på riktig måte. Se de lokale sikkerhetsforskriftene for riktige prosedyrer for kassering.

Se gjeldende sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige på nett i PDF-format på www.qiagen.com/safety, der du kan finne, vise og skrive ut sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheet, SDS) for hvert QIAGEN-sett og hver settkomponent.

Håndtering og oppbevaring av reagenser

Vær spesielt oppmerksom på utløpsdatoene og oppbevaringsvilkårene angitt på komponentenes esker og etiketter. Bruk ikke komponenter som er gått ut på dato eller oppbevart feil.

QIAamp Mini-spinnkolonnene skal oppbevares ved 2–8 °C ved mottak og kan brukes frem til utløpsdatoen som er angitt på settets eske.

Merk: For å sikre at settkomponenter fra ulike sett ikke blandes, bør QIAamp Mini-spinnkolonnene merkes med det tilhørende settets partinummer.

Alle buffere kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C) frem til utløpsdatoen på settets eske.

Lyofilisert QIAGEN Protease (QP) kan oppbevares ved romtemperatur (15–25 °C) frem til settets utløpsdato uten at det påvirker ytelsen.

Stabilitet under bruk

Rekonstituert QIAGEN Protease (QP) er stabil i inntil 1 år ved oppbevaring ved 2–8 °C, men kun frem til settets utløpsdato. Det skal unngås å holde QIAGEN Protease (QP) lagerløsning ved romtemperatur over lengre tid.

Rekonstituert vaskebuffer 1 (AW1) og rekonstituert vaskebuffer 2 (AW2) er stabil i inntil 1 år ved oppbevaring ved romtemperatur (15–25 °C), men kun frem til settets utløpsdato.

Når du skal klargjøre buffere for den automatiske prosedyren, må du følge instruksjonene i *Brukerhåndbok for QIAcube Connect MDx* (som finnes under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com).

Prøvetaking, oppbevaring og håndtering av prøver

Merk: Prøvestabilitet avhenger sterkt av ulike faktorer og er relatert til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Den har blitt vurdert med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Det er brukerens ansvar å sjekke bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsapplikasjonen som brukes på det aktuelle laboratoriet, og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å etablere egnede oppbevaringsbetingelser.

Når det gjelder generell prøvetaking, transport og oppbevaring, kan du se i den godkjente CLSI-retningslinjen MM13-A om "prøvetaking, transport, klargjøring og oppbevaring av prøver for molekylære metoder". Videre skal produsentens instruksjoner for den valgte prøvetakingsenheten følges under prøveklargjøring, -oppbevaring, -transport og generell håndtering. Uavhengig av instruksjonene fra produsenten av blodprøvetakingsrøret, bør du følge ISO 20186-2:2019 (E) for genomisk DNA-ekstraksjon fra venøst fullblod.

Merk: I henhold til ISO 20186-2:2019(E) kan heparin fra blodprøvetakingsrør påvirke renheten til de isolerte nukleinsyrene, og mulig medrivning over i eluater kan forårsake hemming i enkelte nedstrømsapplikasjoner. Derfor anbefaler vi bruk av blodprøver behandlet med EDTA eller sitrat som antikoagulant.

Hvis du bruker ferske blodprøver i primærrør, skal blodprøvene blandes godt (f.eks. ved å vende rørene flere ganger) før prøveoverføring. Frosne prøver (med maksimalt 3 fryse-tine-sykluser) bør tines raskt i vannbad på 37 °C ved forsiktig risting for å sikre grundig blanding og så bringes til romtemperatur (15–25 °C) før prosedyren starter. Ikke bruk blodprøver som er blitt frosset og tint mer enn 3 ganger. Unngå at det dannes skum i prøverørene. Da sikrer du pålitelig prøveoverføring. Forsøk å unngå koagler i prøvene, og overfør prøven uten koagler. Kryopresipitater som blir dannet under tining av frosne prøver, vil tette til QIAamp Mini-spinnkolonnenmembranen eller kan svekke den automatiske prosedyren på QIAcube Connect MDx. Unngå å aspirere synlige kryopresipitater.

Ytelsen og kvaliteten til den rensede DNA-en er avhengig av oppbevaringsforholdene til blodet. Friskere blodprøver kan gi bedre resultater. Ved korttidsoppbevaring i opptil 10 dager anbefaler vi oppbevaring ved 2–8 °C. For bruksområder som krever maksimal fragmentstørrelse, f.eks. southern blotting, anbefaler vi imidlertid oppbevaring ved 2–8 °C i bare opptil 3 dager, idet lave nivåer av DNA-nedbrytning vil forekomme etter dette. Ved langtidsoppbevaring (over 10 dager) samles blod i rør som inneholder standard antikoagulant (fortrinnsvis EDTA, hvis DNA med høy molekylvekt er nødvendig), og oppbevares ved –20 eller –80 °C.

Viktige merknader

Viktige punkter før du starter en protokoll

- Når du har mottatt settet, må du kontrollere om settets komponenter er skadet. Hvis blisterpakningene eller bufferflaskene er skadet, skal du ta kontakt med QIAGENs tekniske serviceavdeling eller din lokale leverandør. Ved væskesøl må du lese «Sikkerhetsinformasjon» (side 15). Bruk ikke skadede settkomponenter, ettersom bruk av disse kan føre til dårlig ytelse for settet.
- Skift alltid pipettespisser mellom væskeoverføringer. For å minimere krysskontaminering anbefaler vi sterkt å benytte pipettespisser med aerosolbarrierer.
- Bruk alltid engangshansker gjennom hele prosedyren, og kontroller regelmessig at de ikke er kontaminert med prøvemateriale. Kast hanskene hvis de blir kontaminert.
- For å minimere krysskontaminering skal du kun åpne ett rør om gangen.
- Etter alle puls-vorteks-blandingstrinnene skal du sentrifugere mikrosentrifugerørene kort for å fjerne dråper fra innsiden av lokket. Brukeren bør sørge for at prøvene kan spores under hele prosedyren.
- Alle sentrifugeringstrinn utføres ved romtemperatur (15–25 °C).
- Bruk ikke komponenter fra andre sett med det settet du bruker for øyeblikket, med mindre partinumrene er identiske.
- Unngå mikrobiell kontaminering av setteagensene.
- For å minimere faren for infeksjon fra potensielt smittefarlig materiale, anbefaler vi å jobbe under laminar air-flow-forhold inntil prøvene er lysert.
- Dette settet skal kun brukes av personell som er opplært i laboratoriepraksis for in vitro-diagnostikk.

Klargjøring av reagenser og buffere

- Klargjør QIAGEN Protease

Tilsett 1,2 ml proteaseløsning (PS) i flasken med lyofilisert QIAGEN Protease (QP), og bland forsiktig. For å unngå skumming blander du innholdet ved å vende flasken flere ganger. Påse at QIAGEN Protease (QP) er helt oppløst.

Viktig: Ikke tilfør QIAGEN Protease (QP) direkte i lyseringsbufferen (AL).

- Klargjøring av vaskebuffer 1

Bruk en målesylinder, og tilsett 25 ml etanol (96–100 %) i flasken som inneholder 19 ml vaskebuffer 1 (AW1)-konsentrat. Oppbevar rekonstituert vaskebuffer 1 (AW1) ved romtemperatur (15–25 °C).

Viktig: Bland alltid rekonstituert vaskebuffer 1 (AW1) ved å vende flasken flere ganger før prosedyren startes.

- Klargjøring av vaskebuffer 2

Bruk en målesylinder, og tilsett 30 ml etanol (96–100 %) i flasken som inneholder 13 ml vaskebuffer 2 (AW2)-konsentrat. Oppbevar rekonstituert vaskebuffer 2 (AW2) ved romtemperatur (15–25 °C).

Viktig: Bland alltid rekonstituert vaskebuffer 2 (AW2) ved å vende flasken flere ganger før prosedyren startes.

- Klargjøring av elusjonsbuffer

Én flaske med elusjonsbuffer (AE) følger med hvert sett. For å unngå kontaminering av elusjonsbuffer (AE) anbefaler vi sterkt at det brukes pipettespisser med aerosolbarrierer ved pipettering av elusjonsbuffer (AE) fra flasken, og at korken på flasken settes på rett etterpå.

Viktig: Elusjonsbuffer (AE) inneholder konserveringsmidlet natriumazid, som viser absorbering ved 260 nm. Ved kvantifisering av DNA i eluatet ved absorberingsmåling ved 260 nm, ved bestemmelse av DNA-renhet i eluatet ved absorberingsmåling ved 260 nm og 280 nm, eller ved skanningsabsorbering i området mellom 220 nm og 350 nm, må det derfor sikres at blindprøven inneholder samme konsentrasjon av natriumazid som eluatet. Hvis du for eksempel klargjør eluat for absorberingsmålinger ved å fortynne 50 µl eluat med 100 µl vann, skal du deretter klargjøre blindprøven ved å fortynne 50 µl elusjonsbuffer (AE) med 100 µl vann. Bruk ferskt, destillert vann til fortynningen.

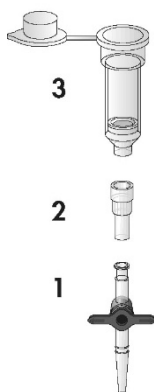
Håndtere QIAamp Mini-spinnkolonner

På grunn av sensitiviteten til nukleinsyreamplifikasjonsteknologi er det viktig å følge disse forholdsreglene ved håndtering av QIAamp Mini-spinnkolonner for å unngå krysskontaminering mellom prøveklargjøringer:

- Tilfør forsiktig prøven eller løsningen til QIAamp Mini-spinnkolonnen. Pipetter prøven i QIAamp Mini-spinnkolonnen uten å fukte kanten på kolonnen.
- Du må ikke berøre membranen på QIAamp Mini-spinnkolonnen med pipettespissen.
- Åpne kun én QIAamp Mini-spinnkolonne om gangen, og vær forsiktig så du unngår å generere aerosoler.

Montere QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet

Sørg for at du setter opp QIAamp Mini-spinnkolonnen, VacConnector (VC) og VacValve på riktig måte (se figur 2).



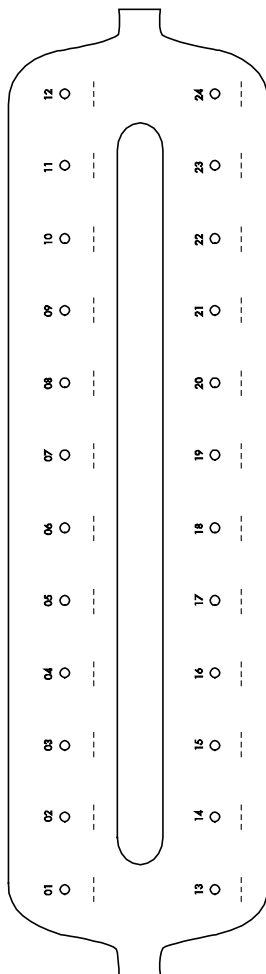
Figur 2. Montering av komponenter i QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit for vakuumbehandling av prøver. (1) VacValve, (2) VacConnector (VC) og (3) QIAamp Mini-spinnkolonne.

Ved bruk av vakuumprosedyren med QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet, anbefaler vi å merke lyseringsrørene (LT), elusjonsrørene (ET) og QIAamp Mini-spinnkolonnene i henhold til skjemaet i figur 3 (se neste side) for å unngå sammenblanding av prøver. Denne figuren kan kopieres og merkes med navnene på prøvene. Vi anbefaler bruk av et lignende skjema hvis du bruker andre vakuumsystemer eller ved bruk av spinnprosedyren.

Dato: _____

Operatør: _____

Kjørings-ID: _____



Figur 3. Merkingsskjema for lyseringsrør (LT), elusjonsrør (ET) og QIAamp Mini-spinnkolonner for bruk på QIAvac 24 Plus-vakuumsystem.

Prosedyre

Protokoll: Isolering og rensing av genomisk DNA fra blodprøvene ved hjelp av en mikrosentrifuge/automatisk rensing på QIAcube Connect MDx

For isolering og rensing av genomisk DNA fra 200 µl fullblodsprøver som er behandlet med EDTA eller citrat, ved bruk av en mikrosentrifuge eller automatisk på QIAcube Connect MDx.

Viktige punkter før du starter

- Prosedyren nedenfor gir instruksjoner for prosessering av en enkelt blodprøve. Flere prøver kan imidlertid behandles samtidig. Antallet avhenger av kapasiteten til mikrosentrifugen som brukes.
- Automatisk behandling av 2–10 eller 12 prøver kan utføres på QIAcube Connect MDx-instrumentet.
- Når du skal bruke den automatiske prosedyren, må du følge instruksjonene i brukergrensesnittet (QIAcube Connect MDx) og lese *brugerhåndboken for QIAcube Connect MDx* (som finnes under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com).





Ting du må gjøre før du starter






- Stabiliser blodprøvene til romtemperatur, og sørg for at de blandes godt.
- Sørg for at alle reagenser og QIAamp Mini-spinnkolonnene (i lukkede blisterpakninger) har oppnådd romtemperatur.
- Sett en varmeblokk på 56 °C, slik at den kan brukes i trinn 4 (må brukes ved manuell prosedyre og automatisk prosedyre med ekstern manuell lysing).
- Kontroller at vaskebuffer 1 (AW1), vaskebuffer 2 (AW2) og QIAGEN Protease (QP) har blitt klargjort i henhold til instruksjonene i "Klargjøring av reagenser og buffere" på side 22.

- Hvis det er dannet presipitat i lyseringsbuffer (AL), må dette løses opp ved hjelp av inkubering ved 56 °C.
- Kvalitetskontrollprosedyrer ved QIAGEN bruker funksjonell release-testing av settene for hver enkelt settparti. Derfor må du ikke blande reagenser fra ulike settpartier og ikke kombinere enkeltreagenser fra ulike reagenspartier.

Prosedyre

- Følg trinn 1–15 for den manuelle prosedyren med en mikrosentrifuge.
 - Denne prosedyren kan automatiseres i 3 forskjellige versjoner:
 - Elusjonsvolum: 100 µl helautomatisert (automatisering fra trinn 1)
 - Elusjonsvolum: 200 µl helautomatisert (automatisering fra trinn 1)
 - Manuell lysering: delvis automatisert med ekstern manuell lysering og elusjonsvolum på 100–200 µl i trinn på 10 µl (automatisering starter etter trinn 5)
1. Pipetter 20 µl QIAGEN Protease (QP) til et lyseringsrør (LT).
 - ⓘ Kontroller utløpsdaten på den rekonstituerte proteasen før bruk.
 2. Tilfør 200 µl blodprøve til lyseringsrøret (LT).
 3. Tilfør 200 µl lyseringsbuffer (AL) til lyseringsrøret (LT), lukk lokket, og bland ved å utføre pulsvorteksblending i ≥ 15 s.
 - ⓘ For å sikre effektiv lysering er det avgjørende at prøven og lyseringsbuffer (AL) blandes grundig for å fremskaffe en homogen løsning.
 - ⓘ Siden lyseringsbufferen (AL) har en høy viskositet, må du sørge for å tilføre riktig volum av lyseringsbuffer (AL) ved å pipettere forsiktig og bruke en egnet pipette.
 - ⓘ Ikke tilfør QIAGEN Protease (QP) direkte i lyseringsbuffer (AL).
 4. Inkuber ved 56 °C i 10 min.

5. Sentrifuger lyseringsrøret (LT) i ≥ 5 s. ved full hastighet for å fjerne dråpene fra innsiden av lokket.
 -  Hvis manuell lysering (trinn 1–5) ble gjort eksternt, kan følgende trinn (trinn 6–15) automatiseres på QIAcube Connect MDx ved hjelp av protokollen for manuell lysering.
6. Tilfør 200 μ l etanol (96–100 %) til lyseringsrøret (LT), lukk lokket, og bland grundig ved hjelp av pulsvorteksblending i ≥ 15 sekunder.
7. Sentrifuger lyseringsrøret (LT) i ≥ 5 s. ved full hastighet for å fjerne dråpene fra innsiden av lokket.
8. Tilsett forsiktig hele lysatet fra trinn 7 til QIAamp Mini-spinnkolonnen uten at kanten blir våt. Du må ikke berøre membranen på QIAamp Mini-spinnkolonnen med pipettespissen.
 -  Ved prosessering av flere prøver, åpne kun et lyseringsrør (LT) om gangen.
9. Lukk lokket på QIAamp Mini-spinnkolonnen, og sentrifuger ved ca. 6000 x g i 1 minutt. Plasser QIAamp Mini-spinnkolonnen i et rent vaskerør (WT), og kast vaskerøret som inneholder filtratet.
 -  Hvis lysatet ikke har kommet helt igjennom membranen etter sentrifugering ved 6000 x g (8000 o/min), må det sentrifugeres på nytt ved full hastighet (inntil 20 800 x g) i 1 minutt.
 -  Hvis lysatet fremdeles ikke kommer gjennom membranen under sentrifugering, skal du kaste prøven og gjenta isoleringen og rensingen med nytt prøvemateriale fra og med trinn 1 på side 27.
10. Åpne forsiktig QIAamp Mini-spinnkolonnen, og tilsett 500 μ l vaskebuffer 1 (AW1) uten at kanten blir våt. Du må ikke berøre membranen på QIAamp Mini-spinnkolonnen med pipettespissen.
11. Lukk lokket på QIAamp Mini-spinnkolonnen, og sentrifuger ved ca. 6000 x g i 1 minutt. Plasser QIAamp Mini-spinnkolonnen i et rent vaskerør (WT), og kast vaskerøret som inneholder filtratet.

12. Åpne forsiktig QIAamp Mini-spinnkolonnen, og tilsett 500 µl vaskebuffer 2 (AW2) uten at kanten blir våt. Du må ikke berøre membranen på QIAamp Mini-spinnkolonnen med pipettespissen.
13. Lukk lokket på QIAamp Mini-spinnkolonnen, og sentrifuger ved full hastighet (ca. 20 000 x g eller 14 000 o/min) i 1 minutt. Plasser QIAamp Mini-spinnkolonnen i et rent vaskerør (WT), og kast vaskerøret som inneholder filtratet.
- Sentrifuger ved full hastighet (ca. 20 000 x g, eller 14 000 o/min) i 3 minutter for å tørke membranen helt.
-  Utelatelse av tørrsentrifugeringen kan føre til hemming av nedstrømsanalysen.
14. Plasser QIAamp Mini-spinnkolonnen i et rent elusjonsrør (ET), og kast vaskerøret (WT) som inneholder filtratet. Åpne forsiktig lokket på QIAamp Mini-spinnkolonnen, og tilfør 50 til 200 µl elusjonsbuffer (AE) midt på membranen.
-  Det er viktig at du bruker et nytt elusjonsrør for å unngå kontaminering med rester av vaskebuffer, da dette kan føre til hemming av nedstrømsanalysen.
 -  Pipettering av elusjonsbuffer (AE) på midten av membranen er spesielt viktig for mindre elusjonsvolum for å sikre optimal gjenfinning av nukleinsyrer og elusjonsbuffer (AE).
15. Lukk lokket, og inkuber ved romtemperatur i 1 minutt. Sentrifuger ved ca. 6000 x g (8000 o/min) i 1 minutt for å eluere DNA-et.
-  Vri lokkene på elusjonsrørene slik at de peker i motsatt retning av rotorens rotasjonsretning (f.eks. hvis rotoren roterer med klokken, skal lokkene peke mot klokken).
 -  Ved alle automatiserte prosedyrer skal eluatene fjernes fra instrumentet rett etter at kjøringen er ferdig og oppbevares forskriftsmessig.

Protokoll: Isolering og rensing av genomisk DNA fra blodprøvene ved bruk av et vakuumsystem

For isolering og rensing av genomisk DNA fra 200 µl fullblodsprøver som er behandlet med EDTA eller citrat, ved bruk av et vakuumsystem som for eksempel QIAvac 24 Plus.

Viktige punkter før du starter

Prosedyren nedenfor gir instruksjoner for prosessering av en enkelt blodprøve. Inntil 24 prøver kan imidlertid behandles samtidig på QIAvac 24 Plus-vakuumsystemet.

Ting du må gjøre før du starter

- Stabiliser blodprøvene til romtemperatur, og sørg for at de blandes godt.
- Sørg for at alle reagenser og QIAamp Mini-spinnkolonene (i lukkede blisterpakninger) har oppnådd romtemperatur.
- Still inn en varmeblokk til 56 °C for bruk i trinn 4.
- Kontroller at vaskebuffer 1 (AW1), vaskebuffer 2 (AW2) og QIAGEN Protease (QP) har blitt klargjort i henhold til instruksjonene i "Klargjøring av reagenser og buffere" på side 22.
- Hvis det er dannet presipitat i lyseringsbuffer (AL), må dette løses opp ved hjelp av inkubering ved 56 °C.
- For å minimere krysskontaminering, skal du sette en VacConnector (VC) i hver lueradapter på vakuumsystemet.
- Forsikre deg om at avfallsflasken til vakuumsystemet er tom, og at alle koblinger er tilkoblet riktig.
- Mer informasjon om bruk av vakuumsystemet, særlig vedlikehold, finner du i den medfølgende håndboken.
- Kvalitetskontrollprosedyrer ved QIAGEN bruker funksjonell release-testing av settene for hver enkelt settparti. Derfor må du ikke blande reagenser fra ulike settpartier og ikke kombinere enkeltreagenser fra ulike reagenspartier.

Prosedyre

1. Pipetter 20 µl QIAGEN Protease (QP) i et lyseringsrør (LT).
 - ⓘ Kontroller utløpsdaten på den rekonstituerte proteasen før bruk.
2. Tilfør 200 µl blodprøve til lyseringsrøret (LT).
3. Tilfør 200 µl lyseringsbuffer (AL) til lyseringsrøret (LT), lukk lokket, og bland med pulsvorteksblending i ≥ 15 sekunder.
 - ⓘ For å sikre effektiv lysering er det avgjørende at prøven og lyseringsbuffer (AL) blandes grundig for å fremskaffe en homogen løsning.
 - ⓘ Siden lyseringsbuffer (AL) har en høy viskositet, må du sørge for å tilføre riktig volum av lyseringsbuffer (AL) ved å pipettere forsiktig og bruke en egnet pipette.
 - ⓘ Ikke tilfør QIAGEN Protease (QP) direkte i lyseringsbuffer (AL).
4. Inkuber ved 56 °C i 10 min.
5. Sentrifuger lyseringsrøret (LT) i ≥ 5 sekunder ved full hastighet for å fjerne dråpene fra innsiden av lokket.
6. Legg til 200 µl etanol (96–100 %) til lyseringsrøret (LT), lukk lokket, og bland grundig med pulsvorteksblending i ≥ 15 s.
7. Sentrifuger lyseringsrøret (LT) i ≥ 5 sekunder ved full hastighet for å fjerne dråpene fra innsiden av lokket.
8. Sett en QIAamp Mini-spinnkolonne inn i VacConnector (VC) på vakuumsystemet. Forsikre deg om at hovedvakuumentilen (mellom vakuumsystemet og vakuumanifolden) og skruhefteventilen (på vakuumanifolden) er lukket. Slå på vakuumpumpen.
Kast vaskerøret (WT) (2 ml) som QIAamp Mini-spinnkolonnen befinner seg i blisterpakningen.
Vakuum påføres kun tilkoblingssystemet (hvis dette brukes) og ikke vakuumanifolden.
9. Tilsett forsiktig hele lysatet fra trinn 7 til QIAamp Mini-spinnkolonnen uten at kanten blir våt. Du må ikke berøre membranen på QIAamp Mini-spinnkolonnen med pipettespissen.

i Ved prosessering av flere prøver, åpne kun et lyseringsrør (LT) om gangen.

10. Åpne hovedvakuumentilen. Etter at lysatet har blitt trukket gjennom QIAamp Mini-spinnkolonnen, lukker du hovedvakuumentilen og åpner skruehetteventilen på vakuumanifolden for å luften ut manifolden. Lukk skruehetteventilen etter at vakuumpet er frigjort fra manifolden.

Etter lukking av hovedvakuumentilen påføres vakuumpet kun tilkoblingssystemet (hvis dette brukes) og ikke vakuumanifolden.

i Bruk skruehetteventilen på vakuumanifolden for rask frigjøring av vakuumpet.

i Ved behandling av flere QIAamp Mini-spinnkolonner samtidig anbefaler vi å lukke VacValve på hver kolonne etter at lysatet har passert gjennom, for å redusere varigheten på dette vakuumpettrinn.

i Hvis lysatet ikke har kommet helt igjennom membranen etter 10 min., plasser QIAamp Mini-spinnkolonnen i et rent vaskerør (WT), lukk lokket, og sentrifuger ved $6000 \times g$ (8000 o/min) i 3 minutter eller inntil lysatet har kommet helt gjennom. Plasser QIAamp Mini-spinnkolonnen i et annet rent vaskerør (WT), og fortsett med trinn 10 av protokollen på side 32.

i Hvis lysatet fremdeles ikke kommer gjennom membranen under sentrifugering, skal du kaste prøven og gjenta isoleringen og rensingen med nytt prøvemateriale fra og med trinn 1 på side 31.

11. Tilfør 750 μl vaskebuffer 1 (AW1) til QIAamp Mini-spinnkolonnen uten at kanten blir våt. Du må ikke berøre membranen på QIAamp Mini-spinnkolonnen med pipettespissen. La lokket på kolonnen være åpent, og åpne hovedvakuumentilen. Etter at vaskebuffer 1 (AW1) er trukket gjennom QIAamp Mini-spinnkolonnen, lukker du hovedvakuumentilen og åpner skruehetteventilen for å luften ut manifolden. Lukk skruehetteventilen etter at vakuumpet er frigjort fra manifolden.

12. Tilfør 750 µl vaskebuffer 2 (AW2) til QIAamp Mini-spinnkolonnen uten at kanten blir våt. Du må ikke berøre membranen på QIAamp Mini-spinnkolonnen med pipettespissen. La lokket på kolonnen være åpent, og åpne hovedvakuumentilen. Etter at vaskebuffer 2 (AW2) er trukket gjennom QIAamp Mini-spinnkolonnen, lukker du hovedvakuumentilen og åpner skruehetteventilen for å luften ut manifolden. Lukk skruehetteventilen etter at vakuum er frigjort fra manifolden.
13. Lukk lokket på QIAamp Mini-spinnkolonnen, fjern den fra vakuumsystemet og kast VacConnector (VC). Plasser QIAamp Mini-spinnkolonnen i et rent vaskerør (WT), og sentrifuger ved full hastighet (ca. 20 000 x g, eller 14 000 o/min) i 3 minutter for å tørke membranen helt.
- ❗ Utelatelse av tørrsentrifugeringen kan føre til hemming av nedstrømsanalysen.
14. Plasser QIAamp Mini-spinnkolonnen i et rent elusjonsrør (ET), og kast vaskerøret (WT) som inneholder filtratet. Åpne forsiktig lokket på QIAamp Mini-spinnkolonnen, og tilfør 50 til 200 µl elusjonsbuffer (AE) midt på membranen.
- ❗ Det er viktig at du bruker et nytt elusjonsrør (ET) for å unngå kontaminering med rester av vaskebuffer, da dette kan føre til hemming av nedstrømsanalysen.
 - ❗ Pipettering av elusjonsbuffer (AE) på midten av membranen er spesielt viktig for mindre elusjonsvolum for å sikre optimal gjenfinning av nukleinsyrer og elusjonsbuffer (AE).
15. Lukk lokket, og inkuber ved romtemperatur i 1 minutt. Sentrifuger ved omtrent 6000 x g (8000 o/min) i 1 minutt for å eluere DNA-et.
- ❗ Vri lokkene på elusjonsrørene (ET) slik at de peker i motsatt retning av rotorens rotasjonsretning (f.eks. hvis rotoren roterer med klokken, skal lokkene peke mot klokken).
 - ❗ Følg vedlikeholdsprosedyren for vakuumsystemet etter utføring av denne protokollen (du finner mer informasjon i håndboken som fulgte med vakuumsystemet).

Kvalitetskontroll

I henhold til QIAGENs ISO-sertifiserte kvalitetsstyringssystem testes hvert parti med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit mot forhåndsbestemte spesifikasjoner for å sikre konsekvent produktkvalitet.

Begrensninger

Systemets ytelse har blitt etablert ved bruk av fullblod til isolering av genomisk DNA.

Informasjon om bruken av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit finner du i avsnittet "Beskrivelse og prinsipp". Den automatiske prosedyren er beskrevet i avsnittet "Protokoll: Isolering og rensing av genomisk DNA fra blodprøvene ved hjelp av en mikrosentrifuge/automatisk rensing på QIAcube Connect MDx".

Det er brukerens ansvar å validere systemets ytelse for eventuelle prosedyrer som brukes i laboratoriet, som ikke dekkes av QIAGENs ytelsesundersøkelser.

For å redusere risikoen for negativ innvirkning på de diagnostiske resultatene skal det brukes egnede kontroller for nedstrømsapplikasjoner. For ytterligere validering anbefales retningslinjene fra Den internasjonale konferanse om harmonisering av tekniske krav (ICH) i ICH Q2 (R1) Validering av analytiske prosedyrer: Tekst og metodologi.

Alle diagnostiske resultater som genereres, må tolkes i sammenheng med andre kliniske funn eller laboratoriefunn.

Ytelseegenskaper

Aktuelle ytelseegenskaper ligger under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com.

Feilsøkingsveiledning

Denne feilsøkingsveiledningen kan være nyttig for å løse problemer som kan oppstå. Hvis du ønsker mer informasjon, kan du også se siden med ofte stilte spørsmål på vårt tekniske supportsenters: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Forskerne ved QIAGENs tekniske serviceavdeling er alltid klare til å besvare eventuelle spørsmål du måtte ha enten om informasjonen og/eller protokollene i denne håndboken eller prøve- og analyseteknologi (for kontaktinformasjon, besøk www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Generell håndtering

- a) Tilstopping av pipettespisser under prøveoverføring
- Bland blodprøvene godt (f.eks. ved å vende rørene flere ganger) før prøveoverføring. Frosne prøver bør tines raskt i vannbad på 37 °C ved forsiktig risting for å sikre grundig blanding og så bringes til romtemperatur (15–25 °C) før prosedyren starter. Forsøk å unngå koagler i prøvene, og overfør prøven uten koagler. Kryopresipitater som blir dannet under tining av frosne prøver, vil tette til QIAamp Mini-spinnkolonnemembranen eller kan føre til problemer under den automatiske prosedyren.
- b) Tilstoppet QIAamp Mini-spinnkolonne
- Spinnarbeidsflyt:
- Hvis lysatet ikke har kommet helt igjennom membranen etter sentrifugering ved 6000 x g (8000 o/min), må det sentrifugeres på nytt ved full hastighet (inntil 20 800 x g) i 1 minutt.
- Hvis lysatet fremdeles ikke kommer gjennom membranen under sentrifugering, skal du kaste prøven og gjenta isoleringen og rensingen med nytt prøvemateriale fra og med trinn 1.
- Vakuumarbeidsflyt:
- Hvis strømningshastigheten reduseres, kan vakuumtiden forlenges.
- Alternativt kan du lukke VacValve, hvis den brukes, og forsiktig fjerne monteringen av VacConnector og VacValve fra QIAamp Mini-spinnkolonnen, uten å miste noe av lysatet.
- Fjern QIAamp Mini-spinnkolonnen fra vakuumanifolden, legg den i et 2 ml vaskerør og sentrifuger den med full hastighet til prøven har passert helt gjennom membranen. Skift ut monteringen av VacConnector og VacValve som inneholder det gjenværende lysatet. Slå på vakuumpumpen, åpne VacValve og fortsett å laste inn det gjenværende lysatet.
- Gjenta prosedyren over hvis QIAamp Mini-spinnkolonnen fortsetter å tette seg.
- Hvis lysatet fremdeles ikke kommer gjennom membranen under sentrifugering, skal du kaste prøven og gjenta isoleringen og rensingen med nytt prøvemateriale fra og med trinn 1.

Kommentarer og forslag

Generell informasjon

Det kan ha dannet seg kryopresipitater på grunn av gjentatt frysing og tining. Disse kan blokkere QIAamp Mini-spinnkolonnen. Ikke bruk blodprøver som er blitt frosset og tint mer enn 3 ganger. Frosne prøver bør tines raskt i vannbad på 37 °C ved forsiktig risting for å sikre grundig blanding og så bringes til romtemperatur (15–25°C) før prosedyren starter.

- c) Presipitat har dannet seg i lyseringsbuffer (AL)
- Løs det opp med inkubering av lyseringsbuffer (AL) ved 56 °C.
- d) Variable elusjonsvolum
- Eluatvolumet som gjenfinnes, avhenger av typen prøve.
- På grunn av gjenværende elusjonsbuffer (AE) i spinnkolonnenmembranen etter sentrifugering, kan eluatvolumet som gjenvinnes være lavere enn volumet av elusjonsbuffer som ble brukt på kolonnen.
- Tilfør elusjonsbufferen (AE) midt på membranen. Pipettering av elusjonsbuffer (AE) på midten av membranen er spesielt viktig for mindre elusjonsvolum for å sikre optimal gjenfinning av nukleinsyrer og elusjonsbuffer (AE).
- e) Vakuumtrykk på cirka 800–900 mbar er ikke nådd
- Vakuumanifolden er ikke tett lukket. Trykk ned lokket på vakuumanifolden etter at vakuomet er slått på. Kontroller om vakuumtrykket er nådd. Pakningen til QIAvac-lokket er utslitt. Kontroller manifoldens forsegling visuelt og skift den ut om nødvendig.
- VacValves er utslitt. Fjern alle VacValves, og sett inn VacConnectors (VC) direkte i luer-forlengelsene. Sett inn QIAamp Mini-spinnkolonner i VacConnectors (VC), lukk lokket på kolonnene, og slå på vakuum. Kontroller om vakuumtrykket er nådd. Skift ut VacValves om nødvendig.
- Tilkobling til vakuumpumpe er utett. Lukk alle luer-forlengelser med luer-lokk og slå på vakuumpumpen. Kontroller om vakuumtrykket er stabilt etter at pumpen er slått på (og Vacuum Regulator-ventilen er stengt). Bytt om nødvendig koblingene mellom pumpe og vakuumanifold.
- Hvis vakuumtrykket fremdeles ikke er nådd, skifter du ut vakuumpumpen ut med en som er sterkere.
- f) Ved problemer i den automatiske arbeidsflyten
- Du finner mer informasjon i *brugerhåndboken til QIAcube Connect MDx* under fanen for ressurser på produksiden til www.qiagen.com.

Lavt DNA-utbytte

- a) Ufullstendig prøvelysering
- Hvis QIAGEN Protease (QP) ble utsatt for forhøyet temperatur i lengre tid, kan det miste aktivitet. Gjenta prosedyren med nye prøver og fersk QIAGEN Protease (QP).
- Sørg for å løse opp QIAGEN Protease (QP) med proteaseløsning (PS) i henhold til instruksjonene over. For å unngå skumming blander du innholdet ved å vende flasken flere ganger. Påse at QIAGEN Protease (QP) er helt oppløst. Ikke tilfør QIAGEN Protease (QP) direkte i lyseringsbuffer (AL).

Kommentarer og forslag

For å sikre effektiv lysering er det avgjørende at prøven og lyseringsbuffer (AL) blandes grundig for å fremskaffe en homogen løsning. Siden lyseringsbuffer (AL) har en høy viskositet, må du sørge for å tilføre riktig volum av lyseringsbuffer (AL) ved å pipettere forsiktig og bruke en egnet pipette.












- | | | |
|----|---|---|
| b) | Etanol med lav prosentandel brukt i stedet for 96–100% | Gjenta renseprosedyren med nye prøver og 96–100 % etanol. Denaturert alkohol som inneholder andre stoffer, som metanol eller metyletylketon, må ikke brukes. |
| c) | Buffer AW1 eller Buffer AW2 klagjort på feil måte | Sørg for at Buffer AW1- og Buffer AW2-konsentratene ble fortynnet med riktig volum av 96–100 % etanol og blandet ved å vende flasken flere ganger før start av prosedyren. |
| d) | Bloodprøver ble ikke oppbevart riktig | Ytelsen og kvaliteten til den rensede DNA-en er avhengig av oppbevaringsforholdene til blodet. Friskere blodprøver kan gi bedre resultater. Ved korttidsoppbevaring i opptil 10 dager anbefaler vi oppbevaring ved 2–8 °C. For bruksområder som krever maksimal fragmentstørrelse, f.eks. southern blotting, anbefaler vi imidlertid oppbevaring ved 2–8 °C i bare opptil 3 dager, idet lave nivåer av DNA-nedbrytning vil forekomme etter dette. Ved langtidsoppbevaring (over 10 dager) samles blod i rør som inneholder standard antikoagulant (fortrinnsvis EDTA, hvis DNA med høy molekylvekt er nødvendig), og oppbevares ved –20 eller –80 °C. |
| e) | Frosne blodprøver ble ikke blandet tilstrekkelig etter oppthining | Frosne prøver bør tines raskt i vannbad på 37 °C ved forsiktig risting for å sikre grundig blanding og så bringes til romtemperatur (15–25 °C) før prosedyren starter. |

DNA yter ikke bra i nedstrømsreaksjoner

- | | | |
|----|--------------------------------|--|
| a) | Lite eller ingen DNA i eluatet | Se "Lavt DNA-utbytte" over for å finne mulig årsak. Øk mengden eluat tilsatt reaksjonen om mulig. |
| b) | Feil elusjonsvolum brukt | Bestem maksimum volum eluat egnet for nedstrømsapplikasjonen. Reduser eller øk volumet av eluat som er tilsatt nedstrømsapplikasjonen tilsvarende. Elusjonsvolumet kan tilpasses proporsjonalt. Elusjon med mindre volum av Buffer AE fører til høyere nukleinsyrekonsentrasjoner, men kan resultere i et lavere totalutbytte. |
| c) | Utilstrekkelig DNA brukt | Kvantifiser det rensede DNA-et med spektrofotometrisk måling av absorbansen ved 260 nm. |
| d) | Overskytende DNA brukt | Overskytende DNA kan hemme noen enzymatiske reaksjoner. Kvantifiser det rensede DNA-et med spektrofotometrisk måling av absorbansen ved 260 nm. |
| e) | Mulig medrivning av hemmer | Sørg for å utføre tørrsentrifugeringstrinnet før elusjon for å forhindre potensiell hemming av nedstrømsanalysen. Det er viktig at du bruker et nytt elusjonsrør (ET) for å unngå kontaminering med rester av vaskebufferne, da dette kan føre til hemming av nedstrømsanalysen. |

Symboler

Følgende symboler vises i bruksanvisningen eller på emballasjen og etiketter:

Symbol	Symboldefinisjon
 Σ <N>	Inneholder reagenser som er tilstrekkelig til <N> reaksjoner
	Siste forbruksdato
	Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen 2017/746 for in vitro-diagnostiske medisinske enheter.
	In vitro-diagnostisk medisinsk enhet
	Ved ankomst
	Åpne ved levering. Oppbevar QIAamp Mini-spinnkolonner ved 2–8 °C
	Katalognummer
	Partinummer
	Materialnummer (dvs. komponentmerking)
	Komponenter
	Innhold

Symbol	Symboldefinisjon
	Nummer
	Globalt artikkelnummer
Rn	R står for revisjon av bruksanvisningen, og n står for revisjonsnummeret
	Temperaturbegrensning
	Produsent
	Se bruksanvisningen
	Volum
	Skriv ned dagens dato etter at du har tilsatt etanol i flasken
	Tilsetter
	Lyofilisert
	Rekonstituer i
	Etanol

Symbol

Symboldefinisjon

	Guanidinhydroklorid
	Subtilisin
	Fører til
	Se bruksanvisningen
	Viktig merknad
	Entydig utstyrsidentifikator

Bestillingsinformasjon

Produkt	Innhold	Kat.nr.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Til 50 klargjøringer: QIAamp Mini Spin Columns, buffere, reagenser, rør, VacConnectors	61104
Relaterte produkter		
QIAcube Connect MDx*	Instrument og 1 års garanti på deler og arbeid	9003070
Tilbehør		
QIAvac 24 Plus†	Vakuumanifold for behandling av 1–24 spinnkolonner: inkluderer QIAvac 24 Plus Vacuum manifold, luer-plugger, hurtigkoblinger	19413
Vacuum Pump (230 V, 50 Hz) †	Universal vakuumpumpe (kapasitet på 34 liter/min, 8 mbar vakuum abs.)	84020
VacConnectors (500)†	500 engangskoblinger for bruk med QIAamp-spinnkolonner på luerkoblinger	19407
VacValves (24)	24 ventiler til bruk med QIAvac 24 og QIAvac 24 Plus	19408
Vacuum Regulator	Til bruk med QIAvac-manifolder	19530
QIAvac Connecting System	System for tilkobling av vakuumanifold med vakuumpumpe: inkluderer brett, avfallsflasker, slanger, koblinger, ventil, måler og 24 VacValves	19419
Rotor Adapters (10 x 24)	Til 240 klargjøringer: 240 engangsrotoradaptere og 240 elusjonsrør (1,5 ml), til bruk med QIAcube Connect MDx	990394

Produkt	Innhold	Kat.nr.
Rotor Adapter Holder	Holder for 12 engangsrotoradaptere, til bruk med QIAcube Connect MDx	990392
Sample Tubes CB (2 ml)	1000 koniske skruhetterør uten base med skjørt (2 ml) til bruk med QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Plugger til risterstativ (12)	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Reagensflasker (30 ml) med lokk, pakke med 6; til bruk med QIAcube Connect MDx	990393
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	Engangsfilterspisser, i stativ, (8 x 128). Til bruk med QIAcube Connect MDx	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (1024)	Engangsfilterspisser, med stor åpning, stativ; (8 x 128). Ikke påkrevd for alle protokoller. Til bruk med QIAcube Connect MDx	990452
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Engangsfilterspisser, i stativ, (8 x 128). Til bruk med QIAcube Connect MDx- og QIASymphony SP/AS-instrumenter	990332

* QIAcube Connect MDx er ikke tilgjengelig i alle land. Kontakt QIAGENs tekniske serviceavdeling for mer informasjon.

† For bruk med vakuumprotokoller.

Du finner oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser i bruksanvisningen for det aktuelle QIAGEN-settet. Bruksanvisninger for QIAGEN-sett kan fås på www.qiagen.com eller kan fås på forespørsel fra QIAGENs tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Endringshistorikk for dokument

Revisjon

Beskrivelse

R1, juni 2022

Versjon 3, revisjon 1

- Oppdatering til settversjon 3 for samsvar med IVDR
- Oppdatering av Beskrivelse og prinsipp
- Oppdatering av Materialer som følger med (tilsetning av virkestoffer) og Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med
- Oppdatering av Advarsler og forholdsregler (innsetting av avsnittet Nødsinformasjon og Avfallshåndtering)
- Oppdatering av Håndtering og oppbevaring av reagenser
- Oppdatering av Prøvetaking, oppbevaring og håndtering av prøver
- Oppdatering av viktige merknader og prosedyrer
- Oppdatering av Begrensninger
- Oppdatering av Ytelsesegenskaper
- Oppdatering av avsnittet Symboler
- Oppdatering av Bestillingsinformasjon

Denne siden skal være tom

Begrenset lisensavtale for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

Bruk av dette produktet innebærer i enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne håndboken, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i panelet. QIAGEN gir ingen lisens for noen av sine åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette panelet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette panelet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne håndboken og andre protokoller som er tilgjengelige på www.qiagen.com. Noen av disse andre protokollene er utarbeidet av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene er ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN garanterer ikke for dem og gir heller ingen garanti for at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette panelet og/eller dets bruk ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette panelet og tilhørende komponenter er lisensiert til engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydnet, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av panelet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuelle immaterielle rettigheter forbundet med panelet og/eller komponentene.

Oppdaterte lisensvilkår er tilgjengelige på www.qiagen.com.

Varemerker: QIAGEN[®], Sample to Insight[®], QIAamp[®], QIAcube[®] (QIAGEN Group); Sarstedt[®] (Sarstedt AG and Co. KG).

Jun-2022 HB-3030-001 1127543NB © 2022 QIAGEN, med enerett.

