

Manuale del kit QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini



Versione 2



Per uso diagnostico in vitro



61104



1071108IT



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

Tel: +49-2103-29-0

R2



1071108IT



Tecnologie per campioni e analisi QIAGEN

QIAGEN è il leader mondiale nelle tecnologie per campioni e analisi destinate all'isolamento e alla rilevazione del contenuto di qualsiasi campione biologico. I nostri prodotti e i nostri servizi di alta qualità sono una garanzia di successo, dall'analisi del campione al risultato.

QIAGEN definisce gli standard:

- nella purificazione del DNA, RNA e delle proteine
- nell'analisi di acidi nucleici e proteine
- nella ricerca sul microRNA e sull'RNAi
- nelle tecnologie automatizzate per campioni e analisi

Il nostro obiettivo è il vostro successo. Per ulteriori informazioni, visitate il sito www.qiagen.com.

Indice generale

Uso previsto	4
Sommario e spiegazione	4
Lisi delle cellule di sangue	5
Legame del DNA genomico alla membrana della QIAamp Mini Spin Column	5
Purificazione automatizzata	6
Materiali in dotazione	9
Contenuto del kit	9
Materiale necessario ma non in dotazione	10
Informazioni di sicurezza	11
Conservazione e manipolazione dei reagenti	13
Conservazione e manipolazione dei campioni	13
Note importanti	15
Prima di iniziare un protocollo	15
Preparazione di reagenti e tamponi	15
Manipolazione di QIAamp Mini Spin Column	16
Eluizione del DNA genomico	17
Resa e qualità del DNA genomico	17
Impostazione dell'apparato da vuoto QIAvac 24 Plus	18
Protocolli	
■ Isolamento e purificazione di DNA genomico da campioni di sangue mediante utilizzo di un apparato da vuoto	20
■ Isolamento e purificazione di DNA genomico da campioni di sangue mediante utilizzo di una microcentrifuga	24
Controllo di qualità	27
Caratteristiche delle prestazioni	27
Prestazioni in applicazioni successive	28
Simboli	33
Riferimenti bibliografici	34
Informazioni sui contatti	35
Informazioni per gli ordini	36

Uso previsto

Il kit QIAamp DSP DNA Blood Mini è un sistema che utilizza la tecnologia su membrana di silice (tecnologia QIAamp) per l'isolamento e la purificazione del DNA genomico da campioni biologici.

Questo prodotto è destinato all'uso da parte di utenti professionisti, quali tecnici e medici esperti nelle tecniche di biologia molecolare.

Il kit QIAamp DSP DNA Blood Mini è destinato alla diagnostica in vitro.

Sommario e spiegazione

Il kit QIAamp DSP DNA Blood Mini utilizza una tecnologia consolidata per offrire un metodo semplice e rapido per isolare e purificare il DNA genomico da 200 µl di sangue intero.

Le procedure del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini concepite per processare simultaneamente più campioni di sangue forniscono DNA purificato, pronto per l'uso. Queste procedure possono essere utilizzate con sangue intero, appena prelevato o congelato, e sangue trattato con citrato o EDTA.

Le semplici procedure di centrifugazione e sottovuoto del QIAamp DSP sono indicate per processare simultaneamente più campioni. Alcune delle procedure di centrifugazione del QIAamp possono essere interamente automatizzate sul sistema QIAcube® per garantire una migliore standardizzazione e una maggiore facilità d'uso (vedere pag. 6).

Non è necessaria alcuna separazione preliminare dei leucociti. Le procedure non richiedono né l'estrazione con fenolo/cloroformio, né la precipitazione con alcool; inoltre, poiché occorre solo il minimo intervento da parte dell'operatore, garantiscono la gestione sicura dei campioni potenzialmente infetti. Le procedure sono concepite in modo da ridurre al minimo la contaminazione crociata da un campione all'altro. Il DNA purificato è pronto per essere utilizzato nella reazione di PCR e in altre applicazioni o in alternativa può essere conservato a una temperatura compresa tra -25°C e -15°C per l'uso successivo.

Principi della procedura

Ogni procedura del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini comprende 4 fasi:

- Lisi delle cellule nel campione di sangue
- Legame del DNA genomico presente nel lisato cellulare alla membrana di una QIAamp Mini Spin Column
- Lavaggio della membrana
- Eluizione del DNA genomico dalla membrana

Questo manuale comprende i protocolli relativi a due procedure alternative del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini: la procedura di centrifugazione, che richiede una centrifuga, e quella sottovuoto, per la quale occorrono una centrifuga e un apparato da vuoto (consultare il diagramma di flusso, pag. 8).

Lisi delle cellule di sangue

I campioni vengono lisati in condizioni denaturanti a temperature elevate. La lisi viene eseguita in presenza di QIAGEN proteasi (QP) e tampone di lisi (AL).

Legame del DNA genomico alla membrana della QIAamp Mini Spin Column

Per ottimizzare il legame del DNA genomico alla membrana della QIAamp Mini Spin Column, si inizia aggiungendo etanolo ai lisati. Successivamente, si applica il lisato a una QIAamp Mini Spin Column e il DNA genomico viene assorbito sulla membrana di silice per effetto della pressione indotta dal vuoto o della forza centrifuga.

Purificazione automatizzata

La purificazione del DNA mediante l'uso del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini può essere interamente automatizzata sul QIAcube. Il sistema innovativo QIAcube si avvale di una tecnologia all'avanguardia per processare le QIAGEN Spin Column, permettendo l'integrazione perfetta di una preparazione automatizzata a bassa resa dei campioni nelle procedure di lavoro del laboratorio. Per la preparazione dei campioni con il QIAcube, è necessario seguire le stesse fasi della procedura manuale (ossia, lisi, legame, lavaggio, eluizione) che permettono di continuare a usare il kit QIAamp DSP DNA Blood Mini per la purificazione di DNA di alta qualità.

Per maggiori informazioni sulla procedura automatizzata, consultare la rispettiva scheda del protocollo disponibile nel sito www.qiagen.com/MyQIAcube. Le schede di protocollo aggiornate possono essere scaricate gratuitamente, oppure richieste al reparto di assistenza tecnica QIAGEN (vedere pag. 35).

Se viene eseguita l'automazione del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini sul sistema QIAcube, quest'ultimo consente di processare non più di 50 campioni, a causa dei volumi morti, dell'evaporazione e dell'ulteriore consumo di reagenti da parte del prelievo automatizzato. QIAGEN garantisce soltanto 50 preparazioni di campioni con l'uso manuale del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.



Figura 1. Sistema QIAcube.

Procedure di centrifugazione e sottovuoto con il kit QIAamp DSP DNA Blood Mini

Procedura di centrifugazione con il QIAamp

Campio



Lisi



Legame



Lavaggio (tampone AW1)



Lavaggio (tampone AW2)



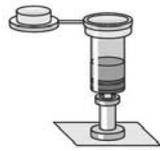
Eluito



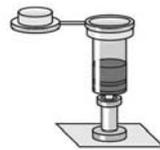
DNA genomico o virale puro

Procedura sottovuoto con il QIAamp

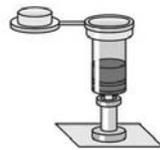
Campio



Sottovuoto



Sottovuoto



Sottovuoto



Prima di iniziare, leggere attentamente i protocolli (pagg. 18 e 22)

Nell'LT, aggiungere 20 μ l di QP, 200 μ l di campione e 200 μ l di AL
Miscelare con vortex per 15 secondi

Incubare per 10 minuti (\pm 1 minuto) a 56°C (\pm 1°C)

Aggiungere 200 μ l di etanolo

Miscelare con vortex per 15 secondi

Trasferire il lisato alla QIAamp Mini Spin Column

Procedura di centrifugazione: centrifugare per 1 minuto a 6000 x g

Procedura sottovuoto: applicare il vuoto

Procedura di centrifugazione: posizionare la QIAamp Mini Spin Column in un nuovo WT, aggiungere 500 μ l di AW1 e centrifugare per 1 minuto a 6000 x g

Procedura sottovuoto: aggiungere 750 μ l di AW1 e applicare il vuoto

Procedura di centrifugazione: posizionare la QIAamp Mini Spin Column in un nuovo WT, aggiungere 500 μ l di AW2 e centrifugare per 1 minuto alla velocità massima (circa 20.000 x g o 14.000 rpm)

Procedura sottovuoto: aggiungere 750 μ l di AW2 e applicare il vuoto

Posizionare la QIAamp Mini Spin Column nel WT

Centrifugare per 3 minuti alla velocità massima (circa 20.000 x g o 14.000 rpm)

Posizionare la QIAamp Mini Spin Column nell'ET

Aggiungere 50–200 μ l di AE e incubare per 1 minuto

Centrifugare per 1 minuto a 6000 x g

Materiali in dotazione

Contenuto del kit

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
Catalogo n°			61104
Numero preparazioni			50*
QIAamp Mini Spin	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (QIAamp Mini Spin Column con provette di lavaggio) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Provette di eluizione) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors (VacConnector)		50
LT	Lysis Tubes (Provette di lisi) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Provette di lavaggio) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer [†] (Tampone di lisi)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 [†] (concentrate) (Tampone di lavaggio 1 [concentrato])		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 [†] (concentrate) (Tampone di lavaggio 2 [concentrato])		13 ml
AE	Elution Buffer [†] (Tampone di eluizione)		25 ml
PS	Protease Solvent [†] (Solvente della proteasi)		2 ml
QP	QIAGEN Protease [§] (Proteasi QIAGEN)		1 fiala
	CD		1
	Manuale		1

* Se viene eseguita l'automazione del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini sul sistema QIAcube, quest'ultimo consente di processare non più di 50 campioni, a causa dei volumi morti, dell'evaporazione e dell'ulteriore consumo di reagenti da parte del prelievo automatizzato. QIAGEN garantisce soltanto 50 preparazioni di campioni con l'uso manuale del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.

† Contiene idrocloruro di guanidina. Non compatibile con disinfettanti contenenti agenti sbiancanti. Per maggiori informazioni, vedere pag. 12.

‡ Contiene azotidrato di sodio come conservante.

§ Volume di risospensione: 1,2 ml. Vedere "Preparazione della QIAGEN proteasi", pag. 15.

Materiale necessario ma non in dotazione

Durante l'uso di sostanze chimiche, indossare sempre un adeguato camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali di protezione. Per maggiori informazioni, consultare le relative schede di sicurezza (MSDS), reperibili presso il fornitore.

Per le procedure di centrifugazione e sottovuoto

- Etanolo (96–100%)
- Pipette* e relativi puntali (per impedire la contaminazione crociata, si raccomanda fortemente di utilizzare puntali con filtro)
- Guanti monouso
- Blocco riscaldante* per la lisi dei campioni a 56°C (si raccomanda Eppendorf® Thermomixer con blocco riscaldante per microprovette da 1,5 ml†)
- Microcentrifuga*
- Cilindro graduato (50 ml)
- Vortex

Solo per la procedura sottovuoto

- Apparato da vuoto QIAvac 24 Plus (QIAvac 24 Plus, n. cat. 19413, QIAvac Connecting System, n. cat. 19419 e Vacuum Pump, n. cat. 84020) o analogo apparato da vuoto generico da laboratorio

* Per assicurarsi che i campioni vengano processati adeguatamente con la procedura del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini, si raccomanda di calibrare gli strumenti (ad esempio, pipette e blocchi riscaldanti) secondo le indicazioni dei produttori.

† L'elenco non è esaustivo; non include infatti molti importanti fornitori di materiali biologici.

Informazioni di sicurezza

Durante l'uso di sostanze chimiche, indossare sempre un adeguato camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali di protezione. Per ulteriori informazioni, consultare le appropriate schede di sicurezza dei materiali (MSDS). Le schede MSDS, nel pratico e compatto formato PDF, sono disponibili online all'indirizzo www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx. Qui è possibile trovare, visualizzare e stampare la scheda MSDS per ciascun kit QIAGEN e i relativi componenti.

ATTENZIONE: NON aggiungere candeggina o soluzioni acide direttamente nelle preparazioni di campione da eliminare.

Il tampone di lisi (AL) e il tampone di lavaggio 1 (AW1) contengono idrocloruro di guanidina, che può formare composti altamente reattivi in combinazione con la candeggina. Se si rovescia il liquido di questi tamponi, pulire con acqua e detergente idoneo per l'uso in laboratorio. Se il liquido rovesciato contiene agenti potenzialmente infetti, pulire l'area interessata con acqua e detergente da laboratorio, successivamente con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% (v/v). Se i flaconi di tampone sono danneggiati o si riscontrano perdite, indossare guanti e occhiali di protezione al momento del loro smaltimento, onde evitare lesioni personali a sé o ad altri.

QIAGEN non ha testato i liquidi di scarico generati dalle procedure del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini per la presenza di materiali infetti residui. La contaminazione dei liquidi di scarico da parte di materiali infetti residui è improbabile, ma non può essere esclusa completamente. Pertanto, i liquidi di scarico devono essere considerati infetti e smaltiti in conformità alle locali normative di sicurezza.

Ai componenti del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini sono associate frasi di rischio e consigli di prudenza:

Tampone di lisi (AL) e tampone di lavaggio (AW1)



Contengono idrocloruro di guanidina: pericoloso, irritante. Frasi di rischio e consigli di prudenza:* R22-36/38, S13-26-36-46

Proteasi QIAGEN (QP)



Contiene subtilisina: sensibilizzante, irritante. Frasi di rischio e consigli di prudenza:* R37/38-41-42, S22-24-26-36/37/39-46

Informazioni di emergenza 24 ore su 24

È possibile ottenere informazioni mediche di emergenza in inglese, francese e tedesco, 24 ore su 24, presso:

Centro di informazioni antiveneni di Mainz, Germania

Tel: +49-6131-19240

* R22: nocivo per ingestione; R36/38: irritante per gli occhi e la pelle; R37/38: irritante per le vie respiratorie e la pelle; R41: rischio di gravi lesioni oculari; R42: può provocare sensibilizzazione per inalazione; S13: conservare lontano da cibi, bevande e alimenti per animali; S22: non respirare le polveri; S24: evitare il contatto con la pelle; S26: in caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico; S36: usare indumenti protettivi adatti; S36/37/39: usare indumenti protettivi adatti; S46: in caso di ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta.

Conservazione e manipolazione dei reagenti

Le QIAamp Mini Spin Column devono essere conservate a 2–8°C al momento della consegna e possono essere utilizzate fino alla data di scadenza indicata sulla scatola del kit.

Tutti i tamponi possono essere conservati a temperatura ambiente (15–25°C) fino alla data di scadenza indicata sulla scatola del kit.

La proteasi QIAGEN liofilizzata (QP) può essere conservata a temperatura ambiente (15–25°C) fino alla data di scadenza senza alcuna perdita di prestazioni. La QIAGEN proteasi ricostituita è stabile fino a un anno se conservata a 2–8°C, ma solo fino alla data di scadenza.

Il tampone di lavaggio ricostituito 1 (AW1) e il tampone di lavaggio ricostituito 2 (AW2) sono stabili fino a un anno se conservati a temperatura ambiente (15–25°C), ma solo fino alla data di scadenza.

Conservazione e manipolazione dei campioni

I crioprecipitati che si formano durante lo scongelamento di campioni congelati ostruiscono la membrana della QIAamp Mini Spin Column. Se sono visibili dei crioprecipitati, non aspirarli durante l'aspirazione del campione. Gli effetti del congelamento e dello scongelamento dei campioni di sangue sulla purificazione del DNA eseguita mediante l'utilizzo del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini sono stati determinati (vedere Figura 2).

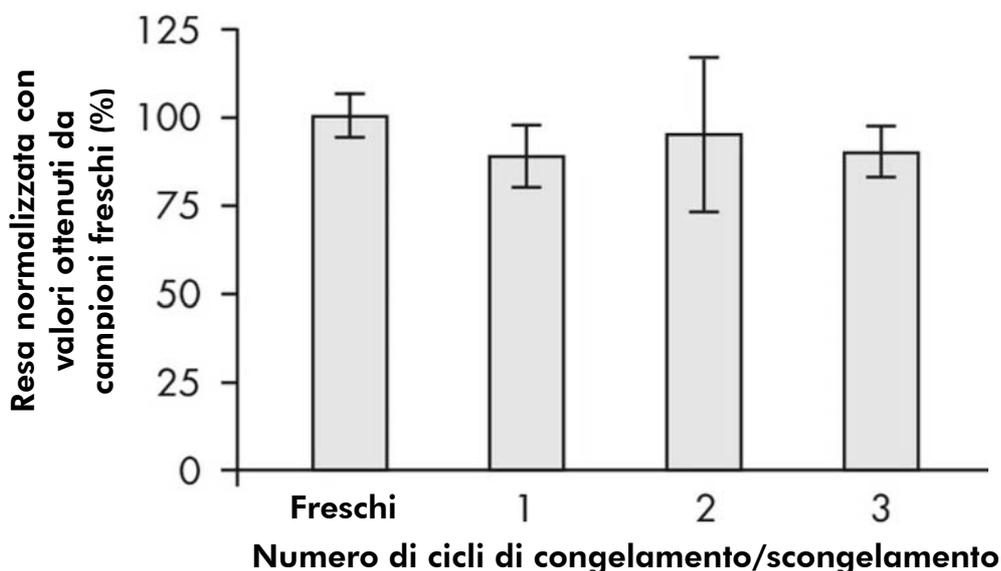


Figura 2. Effetti del congelamento e dello scongelamento dei campioni di sangue. Il sangue trattato con EDTA è stato congelato e scongelato fino a 3 volte, quindi sottoposto a purificazione del DNA mediante l'utilizzo del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Le rese di DNA sono normalizzate con valori ottenuti da campioni freschi (%). Ciascuna barra del grafico rappresenta i risultati ottenuti utilizzando 32 repliche (media ± deviazione standard).

La quantità di DNA purificato fornita dalle procedure del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini dipende dal contenuto leucocitario di ciascun campione di sangue. Utilizzando la procedura di centrifugazione o sottovuoto, il DNA genomico è purificato da 200 μ l di sangue di donatori sani. È possibile utilizzare diverse provette primarie e anticoagulanti per il prelievo dei campioni di sangue da estrarre con le procedure del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini (Tabella 1).

Tabella 1. Rese medie relative di DNA ottenute da campioni di sangue raccolti utilizzando provette primarie e anticoagulanti diversi.

Provetta primaria	Produttore	N. cat.	Volume nominale	Resa media*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 μ g
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 μ g
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 μ g
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 μ g
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 μ g
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6,5 μ g
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6,3 μ g

Il DNA genomico è stato purificato da 200 μ l di campioni di sangue di donatori sani (da $4,0 \times 10^6$ cellule/ml a $9,0 \times 10^6$ cellule/ml).

* Per ciascuna provetta primaria, la resa media è determinata utilizzando 11 campioni in triplicato.

Rimozione dei residui contaminanti

Mentre il DNA genomico rimane legato alla membrana della QIAamp Mini Spin Column, i contaminanti vengono rimossi efficacemente dal lavaggio eseguito prima con il tampone di lavaggio 1 (AW1) e successivamente con il tampone di lavaggio 2 (AW2).

Eluizione di DNA genomico puro

Il DNA genomico viene eluito dalla membrana della QIAamp Mini Spin Column utilizzando 50–200 μ l di tampone di eluizione (AE). Il DNA eluito può essere utilizzato in numerose applicazioni successive, compresi diversi tipi di test diagnostici successivi in vitro.

Note importanti

Prima di iniziare un protocollo

- Verificare che i componenti del kit non siano danneggiati. Se le confezioni blister o i flaconi di tampone appaiono danneggiati, rivolgersi al servizio di assistenza QIAGEN o al locale distributore. In caso di rovesciamento dei liquidi, consultare le "Informazioni di sicurezza" (pag. 11). Non utilizzare componenti del kit danneggiati, poiché potrebbero limitare le capacità estrattive del kit.
- Fra un trasferimento di liquido e l'altro, sostituire sempre i puntali delle pipette. Per limitare al minimo il rischio di contaminazione crociata, si consiglia di utilizzare puntali con filtro.
- Tutte le fasi di centrifugazione hanno luogo a temperatura ambiente (15–25°C).
- Utilizzare sempre guanti monouso e controllare regolarmente che non siano contaminati. Se i guanti risultano contaminati, eliminarli.
- Per limitare al minimo il rischio di contaminazione crociata, aprire soltanto una provetta per volta.
- Non utilizzare contemporaneamente componenti di più kit per la stessa procedura, a meno che i numeri di lotto non siano identici.
- Evitare la contaminazione microbica dei reagenti del kit.
- Per ridurre al minimo il rischio di infezione dovuto a materiale potenzialmente infetto, si raccomanda di operare in condizioni di flusso d'aria laminare finché non ha avuto luogo la lisi dei campioni.
- Il kit deve essere utilizzato esclusivamente da personale esperto nelle pratiche di laboratorio per la diagnostica in vitro.

Preparazione di reagenti e tamponi

■ Preparazione della QIAGEN proteasi

Aggiungere 1,2 ml di solvente proteasi (PS) alla fiala di QIAGEN proteasi (QP) liofilizzata e miscelare con attenzione. Per evitare la formazione di schiuma, capovolgere più volte la fiala. Assicurarsi che la QIAGEN proteasi (QP) sia completamente disciolta.

 Non aggiungere la QIAGEN proteasi (QP) direttamente al tampone di lisi (AL).

■ Preparazione del tampone di lavaggio 1

Utilizzando un cilindro graduato, aggiungere 25 ml di etanolo (96–100%) al flacone contenente 19 ml di tampone di lavaggio 1 (AW1) concentrato. Conservare il tampone di lavaggio 1 (AW1) ricostituito a temperatura ambiente (15–25°C).

① Miscelare sempre il tampone di lavaggio 1 (AW1) ricostituito, capovolgendo il flacone più volte prima di iniziare la procedura.

■ Preparazione del tampone di lavaggio 2

Utilizzando un cilindro graduato, aggiungere 30 ml di etanolo (96–100%) al flacone contenente 13 ml di tampone di lavaggio 2 (AW2) concentrato. Conservare il tampone di lavaggio 2 (AW2) ricostituito a temperatura ambiente (15–25°C).

① Miscelare sempre il tampone di lavaggio 2 (AW2) ricostituito, capovolgendo il flacone più volte prima di iniziare la procedura.

■ Preparazione del tampone di eluizione

Nel kit è incluso un flacone di tampone di eluizione (AE). Per evitare la contaminazione del tampone di eluizione (AE), si raccomanda di utilizzare puntali di pipette con filtro durante il prelievo del tampone di eluizione (AE) dal flacone e di chiudere il tappo del flacone immediatamente dopo l'utilizzo.

① Il tampone di eluizione (AE) contiene sodio azide, un conservante con assorbanza a 260 nm. Pertanto, se si quantifica il DNA nell'eluato tramite la misurazione dell'assorbanza a 260 nm o si determina il grado di purezza del DNA nell'eluato tramite misurazioni dell'assorbanza a 260 e a 280 nm o si esegue la scansione dell'assorbanza nel range tra 220 e 350 nm, assicurarsi che il bianco contenga la stessa concentrazione di sodio azide dell'eluato. Ad esempio, se si prepara l'eluato per le misurazioni dell'assorbanza diluendo 50 µl di eluato con 100 µl di acqua, occorre preparare il bianco diluendo 50 µl di tampone di eluizione (AE) con 100 µl di acqua. Per le diluizioni, usare acqua distillata appena preparata.

Manipolazione di QIAamp Mini Spin Column

A causa della sensibilità delle tecnologie di amplificazione degli acidi nucleici, osservare le seguenti precauzioni per la manipolazione delle QIAamp Mini Spin Column per evitare la contaminazione crociata tra le preparazioni dei campioni:

- Applicare con cura il campione o la soluzione alla QIAamp Mini Spin Column. Pipettare il campione nella QIAamp Mini Spin Column senza bagnare il bordo della colonna.
- Fra un trasferimento di liquido e l'altro, sostituire sempre i puntali delle pipette. Si raccomanda di utilizzare puntali con filtro.
- Non toccare la membrana della QIAamp Mini Spin Column con il puntale della pipetta.
- Dopo tutte le fasi di centrifugazione a impulsi con vortex, centrifugare brevemente le provette per microcentrifuga per eliminare le gocce dall'interno dei tappi.
- Aprire una sola QIAamp Mini Spin Column per volta, facendo attenzione a non generare aerosol.
- Indossare i guanti durante tutta la procedura. In caso di contatto tra i guanti e il campione, cambiare i guanti immediatamente.

Eluizione del DNA genomico

Il volume di DNA eluito da una QIAamp Mini Spin Column può risultare fino a 20 μl inferiore al volume del tampone di eluizione (AE) applicato alla colonna. Il volume dell'eluato ottenuto dipende dalla natura del campione. Lasciare equilibrare il tampone di eluizione (AE) a temperatura ambiente (15–25°C) prima di applicarlo alla colonna. Il DNA eluito viene raccolto in provette di eluizione (ET). Se il DNA viene conservato per un periodo inferiore alle 4 settimane, si raccomanda la sua conservazione a 2–8°C. Per la conservazione a lungo termine, si raccomanda una temperatura di –20°C.

Resa e qualità del DNA genomico

La resa e la qualità del DNA genomico isolato sono adeguate per molte procedure di determinazione utilizzate in diagnostica molecolare. Eseguire i test diagnostici attenendosi alle istruzioni dei produttori.

Impostazione dell'apparato da vuoto QIAvac 24 Plus

Assicurarsi di impostare correttamente la QIAamp Mini Spin Column, il VacConnector (VC) e la VacValve (vedere Figura 3).

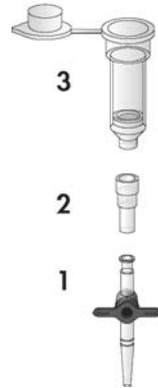


Figura 3. Montaggio dei componenti del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini per l'estrazione sottovuoto dei campioni.

1. VacValve (in dotazione con l'apparato da vuoto)
2. VacConnector (VC)
3. QIAamp Mini Spin Column

Se si utilizza la procedura sottovuoto con l'apparato da vuoto QIAvac 24 Plus, si raccomanda di etichettare le provette di lisi (LT), le provette di eluizione (ET) e le QIAamp Mini Spin Column secondo lo schema in Figura 4 (vedere pagina seguente), in modo da non confondere i campioni. Per praticità, è possibile fotocopiare la figura e apporvi le etichette dei nomi dei campioni. Si raccomanda di ricorrere a uno schema analogo se si impiegano altri apparati da vuoto o se si utilizza la procedura di centrifugazione.

Data: _____

Operatore: _____

ID esecuzione: _____

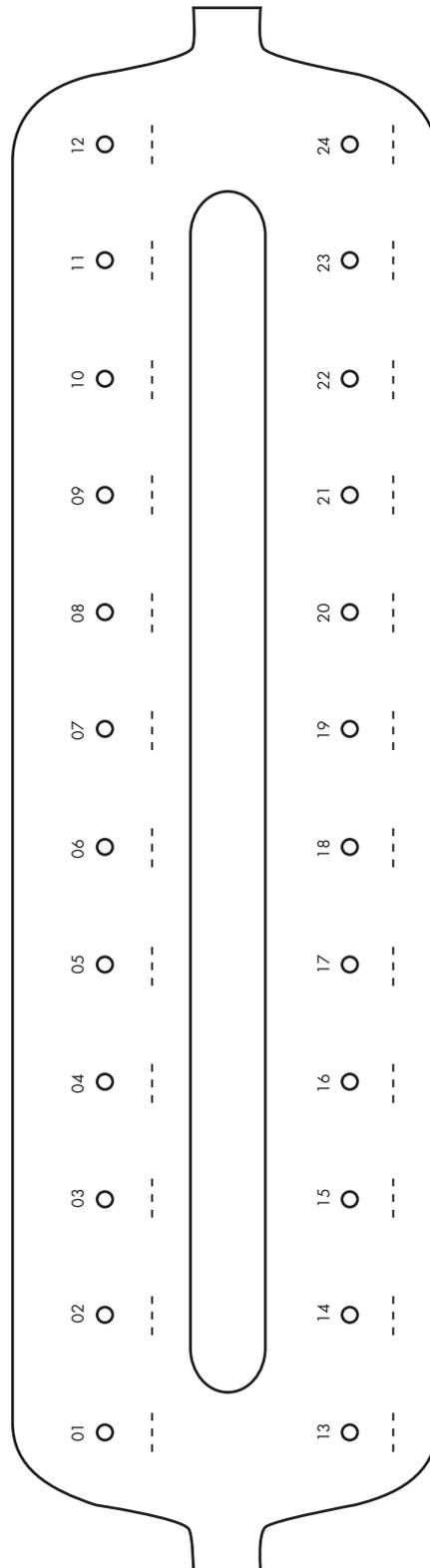


Figura 4. Schema di etichettatura per provette di lisi (LT), provette di eluizione (ET) e QIAamp Mini Spin Column da utilizzare nell'apparato da vuoto QIAvac 24 Plus.

Protocollo: isolamento e purificazione di DNA genomico da campioni di sangue mediante utilizzo di un apparato da vuoto

Per isolare e purificare DNA genomico da campioni di 200 µl di sangue intero trattati con EDTA o citrato utilizzando un apparato da vuoto come QIAvac 24 Plus

Punti importanti prima di iniziare

- La seguente procedura fornisce istruzioni per elaborare un singolo campione di sangue. Tuttavia, l'apparato da vuoto QIAvac 24 Plus permette di elaborare simultaneamente fino a 24 campioni.

Cosa fare prima di iniziare il protocollo di estrazione

- Lasciar equilibrare i campioni di sangue a temperatura ambiente (15–25°C) e assicurarsi che siano adeguatamente miscelati.
- Se nel tampone di lisi (AL) si sono formati dei precipitati, è necessario discioglierli incubando il tampone (AL) a 56°C.
- Assicurarsi che il tampone di lavaggio 1 (AW1), il tampone di lavaggio 2 (AW2) e la proteasi QIAGEN (QP) siano stati preparati secondo le istruzioni della sezione "Preparazione di reagenti e tamponi", pagg. 15 e 16.
- Lasciar equilibrare il tampone di eluizione (AE) a temperatura ambiente (15–25°C) per utilizzarlo nel passaggio 14.
- Impostare un blocco termostato a 56°C per utilizzarlo nel passaggio 4.
- Per limitare al minimo la contaminazione crociata, inserire un VacConnector (VC) in ciascun adattatore luer dell'apparato da vuoto.
- Le procedure di controllo di qualità di QIAGEN comprendono l'esecuzione di test funzionali sul rilascio dei kit condotti sui singoli lotti di kit. Pertanto, non miscelare reagenti appartenenti a lotti di kit diversi e non unire singoli reagenti provenienti da lotti di reagenti diversi.
- Assicurarsi che nell'apparato da vuoto il flacone di scarico sia vuoto e che tutti i raccordi siano collegati correttamente.
- Per ulteriori informazioni sul funzionamento dell'apparato da vuoto, in particolare sulla manutenzione, consultare il manuale fornito in dotazione con tale attrezzatura.

Procedura

1. Pipettare 20 µl di proteasi QIAGEN (QP) in una provetta di lisi (LT).

i Prima dell'uso, verificare la data di scadenza della proteasi ricostituita.

2. Aggiungere 200 µl di campione di sangue alla provetta di lisi (LT).

3. Aggiungere 200 µl di tampone di lisi (AL) alla provetta di lisi (LT), chiudere il tappo della provetta e miscelare il campione mediante centrifugazione a impulsi con vortex per 15 secondi.

Per assicurare una lisi efficace, è essenziale miscelare con cura il campione e il tampone di lisi, in modo da ottenere una soluzione omogenea.

i Poiché il tampone di lisi (AL) presenta un'elevata viscosità, assicurarsi di aggiungere il volume appropriato di tampone di lisi (AL) pipettando accuratamente o utilizzando una pipetta adeguata.

i Non aggiungere la QIAGEN proteasi (QP) direttamente al tampone di lisi (AL).

4. Incubare a 56°C (± 1°C) per 10 minuti (± 1 minuto).

5. Centrifugare la provetta di lisi (LT) per ≥5 secondi alla velocità massima per rimuovere le gocce all'interno del tappo della provetta.

6. Aggiungere 200 µl di etanolo (96–100%) alla provetta di lisi (LT), chiudere il tappo della provetta e miscelare il campione mediante centrifugazione a impulsi con vortex per 15 secondi.

7. Centrifugare la provetta di lisi (LT) per ≥5 secondi alla velocità massima per rimuovere le gocce all'interno del tappo della provetta.

8. Inserire la QIAamp Mini Spin Column nel VacConnector (VC) sull'apparato da vuoto. Accertarsi che la valvola da vuoto principale (tra l'apparato da vuoto e il relativo collettore) e la valvola con tappo a vite (sul collettore da vuoto) siano chiuse. Accendere la pompa da vuoto.

Eliminare la provetta di lavaggio (WT) (2 ml) in cui viene collocata la QIAamp Mini Spin Column nel blister.

Il vuoto viene applicato soltanto al sistema di connessione (se utilizzato), anziché al collettore da vuoto.

9. Applicare con cura l'intero lisato del passaggio 7 alla QIAamp Mini Spin Column, senza bagnarne il bordo. Non toccare la membrana della QIAamp Mini Spin Column con il puntale della pipetta.

i Se si elaborano vari campioni, aprire solo una provetta di lisi (LT) per volta.

10. Aprire la valvola da vuoto principale. Dopo avere estratto il lisato attraverso la QIAamp Mini Spin Column, chiudere la valvola da vuoto principale e aprire la valvola con tappo a vite sul collettore da vuoto per eseguire lo sfiato del collettore. Chiudere la valvola con tappo a vite dopo il rilascio del vuoto dal collettore.

Dopo avere chiuso la valvola da vuoto principale, il vuoto viene applicato soltanto al sistema di connessione (se utilizzato), anziché al collettore da vuoto.

- ① Utilizzare la valvola con tappo a vite del collettore da vuoto per un rilascio rapido del vuoto.
- ① Se si utilizzano più QIAamp Mini Spin Column simultaneamente, si consiglia di chiudere la VacValve di ogni colonna dopo il passaggio del lisato, in modo da limitare la durata di questa fase.
- ① Se dopo 10 minuti il lisato non è ancora passato attraverso la membrana, posizionare la QIAamp Mini Spin Column in una provetta di lavaggio (WT) pulita, chiudere il tappo della provetta e centrifugare a circa 6000 x g (8000 rpm) per 3 minuti o finché il lisato non ha attraversato completamente la membrana. Posizionare la QIAamp Mini Spin Column in un'altra provetta di lavaggio (WT) pulita e continuare con il passaggio 10 del protocollo a pag. 25.
- ① Se il lisato continua a non passare attraverso la membrana durante la centrifugazione, eliminare il campione e ripetere l'isolamento e la purificazione con nuovi campioni iniziando dal passaggio 1 a pag. 21.

11. Applicare 750 µl di tampone di lavaggio 1 (AW1) alla QIAamp Mini Spin Column, senza bagnarne il bordo. Non toccare la membrana della QIAamp Mini Spin Column con il puntale della pipetta. Lasciare aperto il tappo della colonna e aprire la valvola da vuoto principale. Dopo avere estratto il tampone di lavaggio 1 (AW1) attraverso la QIAamp Mini Spin Column, chiudere la valvola da vuoto principale e aprire la valvola con tappo a vite per eseguire lo sfiato del collettore. Chiudere la valvola con tappo a vite dopo il rilascio del vuoto dal collettore.

12. Applicare 750 µl di tampone di lavaggio 2 (AW2) alla QIAamp Mini Spin Column, senza bagnarne il bordo. Non toccare la membrana della QIAamp Mini Spin Column con il puntale della pipetta. Lasciare aperto il tappo della colonna e aprire la valvola da vuoto principale. Dopo avere estratto il tampone di lavaggio 2 (AW2) attraverso la QIAamp Mini Spin Column, chiudere la valvola da vuoto principale e aprire la valvola con tappo a vite per eseguire lo

sfiato del collettore. Chiudere la valvola con tappo a vite dopo il rilascio del vuoto dal collettore.

- 13. Chiudere il tappo della QIAamp Mini Spin Column, rimuoverla dall'apparato da vuoto ed eliminare il VacConnector (VC). Posizionare la QIAamp Mini Spin Column in una provetta di lavaggio (WT) pulita e centrifugare alla velocità massima (circa 20.000 x g o 14.000 rpm) per 3 minuti, in modo da asciugare la membrana completamente.**

i Se la membrana non viene asciugata per centrifugazione, potrebbe risultare impossibile eseguire il test successivo.

- 14. Posizionare la QIAamp Mini Spin Column in una provetta di eluizione (ET) pulita ed eliminare la provetta di lavaggio (WT) contenente il filtrato. Aprire con cura il tappo della QIAamp Mini Spin Column e applicare da 50 a 200 µl di tampone di eluizione (AE) al centro della membrana. Chiudere il tappo e incubare a temperatura ambiente per (15–25°C) per 1 minuto. Centrifugare a 6000 x g (8000 rpm) per 1 minuto per eluire il DNA.**

i Dopo l'esecuzione del protocollo, attenersi alla procedura di manutenzione dell'apparato da vuoto (per ulteriori informazioni, consultare il manuale in dotazione con tale attrezzatura).

Protocollo: isolamento e purificazione di DNA genomico da campioni di sangue mediante utilizzo di una microcentrifuga

Per isolare e purificare DNA genomico da campioni di sangue intero di 200 μ l trattati con EDTA o citrato utilizzando una microcentrifuga.

Punti importanti prima di iniziare

- La seguente procedura fornisce istruzioni per processare un singolo campione di sangue. È tuttavia possibile processare vari campioni simultaneamente; il numero dipende dalla capacità della microcentrifuga impiegata.

Cosa fare prima di iniziare

- Lasciar equilibrare i campioni di sangue a temperatura ambiente (15–25°C) e assicurarsi che siano adeguatamente miscelati.
- Se nel tampone di lisi (AL) si sono formati dei precipitati, è necessario discioglierli incubando il tampone (AL) a 56°C.
- Assicurarsi che il tampone di lavaggio 1 (AW1), il tampone di lavaggio 2 (AW2) e la proteasi QIAGEN (QP) siano stati preparati secondo le istruzioni della sezione “Preparazione di reagenti e tamponi”, pagg. 15 e 16.
- Lasciar equilibrare il tampone di eluizione (AE) a temperatura ambiente (15–25°C) per utilizzarlo nel passaggio 15.
- Impostare un blocco termostato a 56°C per utilizzarlo nel passaggio 4.
- Le procedure di controllo di qualità di QIAGEN comprendono l’esecuzione di test funzionali sul rilascio dei kit condotti sui singoli lotti di kit. Pertanto, non miscelare reagenti appartenenti a lotti di kit diversi e non unire singoli reagenti provenienti da lotti di reagenti diversi.

Procedura

1. Pipettare 20 μ l di proteasi QIAGEN (QP) in una provetta di lisi (LT).



Prima dell’uso, verificare la data di scadenza della proteasi ricostituita.

2. Aggiungere 200 μ l di campione di sangue alla provetta di lisi (LT).

3. Aggiungere 200 μ l di tampone di lisi (AL) alla provetta di lisi (LT), chiudere il tappo della provetta e miscelare il campione mediante centrifugazione a impulsi con vortex per 15 secondi.

Per assicurare una lisi efficace, è essenziale miscelare con cura il campione e il tampone di lisi (AL), in modo da ottenere una soluzione omogenea.

- ① Poiché il tampone di lisi (AL) presenta un'elevata viscosità, assicurarsi di aggiungere il volume appropriato di tampone di lisi (AL) pipettando accuratamente o utilizzando una pipetta adeguata.
 - ① Non aggiungere la QIAGEN proteasi (QP) direttamente al tampone di lisi (AL).
- 4. Incubare a 56°C (± 1°C) per 10 minuti (± 1 minuto).**
 - 5. Centrifugare la provetta di lisi (LT) per ≥5 secondi alla velocità massima per rimuovere le gocce all'interno del tappo della provetta.**
 - 6. Aggiungere 200 µl di etanolo (96–100%) alla provetta di lisi (LT), chiudere il tappo della provetta e miscelare il campione mediante centrifugazione a impulsi con vortex per 15 secondi.**
 - 7. Centrifugare la provetta di lisi (LT) per ≥5 secondi alla velocità massima per rimuovere le gocce all'interno del tappo della provetta.**
 - 8. Applicare con cura l'intero lisato del passaggio 7 alla QIAamp Mini Spin Column, senza bagnarne il bordo. Non toccare la membrana della QIAamp Mini Spin Column con il puntale della pipetta.**
- ① Se si elaborano vari campioni, aprire solo una provetta di lisi (LT) per volta.
- 9. Chiudere il tappo della QIAamp Mini Spin Column e centrifugare a circa 6000 x g per 1 minuto. Posizionare la QIAamp Mini Spin Column in una provetta di lavaggio (WT) pulita ed eliminare la provetta contenente il filtrato.**
- ① Se il lisato non ha attraversato completamente la membrana dopo la centrifugazione a circa 6000 x g (8000 rpm), centrifugare di nuovo alla velocità massima (fino a 20.800 x g) per 1 minuto.
 - ① Se il lisato continua a non passare attraverso la membrana durante la centrifugazione, eliminare il campione e ripetere l'isolamento e la purificazione con nuovi campioni iniziando dal passaggio 1 a pag. 24.
- 10. Aprire con cura la QIAamp Mini Spin Column e aggiungere 500 µl di tampone di lavaggio 1 (AW1), senza bagnarne il bordo. Non toccare la membrana della QIAamp Mini Spin Column con il puntale della pipetta.**
 - 11. Chiudere il tappo della QIAamp Mini Spin Column e centrifugare a circa 6000 x g per 1 minuto. Posizionare la QIAamp Mini Spin Column in una provetta di lavaggio (WT) pulita ed eliminare la provetta contenente il filtrato.**

- 12. Aprire con cura la QIAamp Mini Spin Column e aggiungere 500 μ l di tampone di lavaggio 2 (AW2), senza bagnarne il bordo. Non toccare la membrana della QIAamp Mini Spin Column con il puntale della pipetta.**
- 13. Chiudere il tappo della QIAamp Mini Spin Column e centrifugare alla velocità massima (circa 20.000 x g o 14.000 rpm) per 1 minuto. Posizionare la QIAamp Mini Spin Column in una provetta di lavaggio (WT) pulita ed eliminare la provetta contenente il filtrato.**
- 14. Centrifugare alla velocità massima (circa 20.000 x g o 14.000 rpm) per 3 minuti, in modo da asciugare la membrana completamente.**

i Se la membrana non viene asciugata per centrifugazione, potrebbe risultare impossibile eseguire il test successivo.

- 15. Posizionare la QIAamp Mini Spin Column in una provetta di eluizione (ET) pulita ed eliminare la provetta di lavaggio (WT) contenente il filtrato. Aprire con cura il tappo della QIAamp Mini Spin Column e applicare da 50 a 200 μ l di tampone di eluizione (AE) al centro della membrana. Chiudere il tappo e incubare a temperatura ambiente per (15–25°C) per 1 minuto. Centrifugare a circa 6000 x g (8000 rpm) per 1 minuto per eluire il DNA.**

Controllo di qualità

In conformità al Sistema di gestione della qualità certificato da ISO di QIAGEN, ogni lotto di kit QIAamp DSP DNA Blood Mini viene testato rispetto a specifiche prestabilite, per garantire la costante qualità del prodotto.

Limitazioni

Le prestazioni del sistema sono state determinate mediante l'uso di sangue intero per l'isolamento del DNA genomico.

È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni del sistema per qualunque procedura utilizzata in laboratorio che non sia coperta dagli studi di valutazione delle prestazioni QIAGEN.

Per ridurre al minimo il rischio di un impatto negativo sui risultati diagnostici, è necessario ricorrere ad appropriati controlli delle applicazioni successive. Per un'ulteriore convalida, si consiglia di attenersi alle linee guida della Conferenza Internazionale sull'Armonizzazione dei Requisiti Tecnici (ICH) riportate in *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology* (ICH Q2(R1) Convalida dei metodi analitici: Testo e metodologia).

Gli eventuali risultati diagnostici generati dal sistema devono essere interpretati in combinazione con gli esiti di altri esami clinici o di laboratorio.

Caratteristiche delle prestazioni

Resa del DNA purificato

Il range lineare della resa di DNA ottenuta grazie alla procedura sottovuoto del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini è stato determinato con sangue fornito da donatori sani con una conta leucocitaria di $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ cellule/ml (vedere Figura 5, pag. 28).

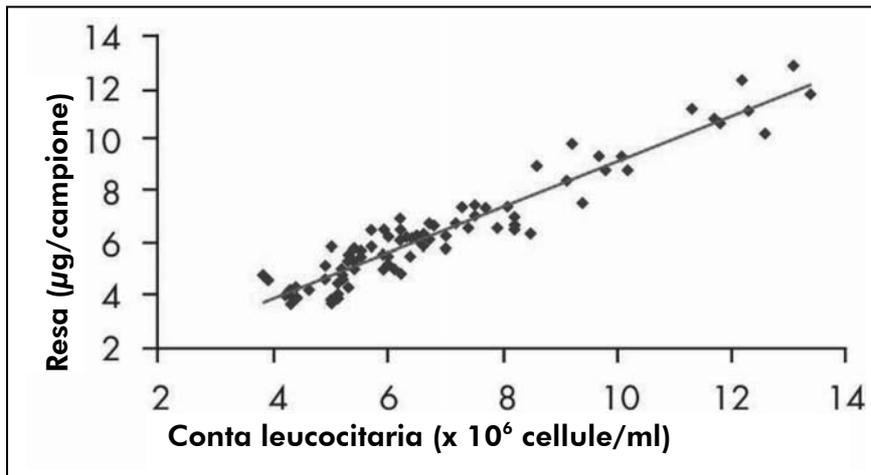


Figura 5. Range lineare della resa di DNA utilizzando la procedura sottovuoto del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini con un volume di eluizione di 200 µl. Sono state determinate le conte leucocitarie di donatori sani ed è stato stabilito il range di $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ cellule/ml. Il DNA è stato purificato da campioni di sangue utilizzando la procedura sottovuoto del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini con un volume di eluizione di 200 µl. Sono stati processati 87 campioni in triplicato.

Prestazioni in applicazioni successive

Il DNA genomico eluito può essere utilizzato in numerose applicazioni successive, compresi diversi tipi di test diagnostici successivi in vitro (Tabelle 2–6). Gli effetti sulla reazione di PCR del volume di eluizione e di quello dell'eluato utilizzato in PCR sono stati determinati (vedere Tabella 7).

Tabella 2. Tipizzazione HLA mediante utilizzo delle analisi Dynal® AllSet+™ SSP HLA-A "bassa risoluzione", HLA-B "bassa risoluzione", DR "bassa risoluzione" e DQ "bassa risoluzione"

HLA loco A		HLA loco B		HLA loco DR		HLA loco DQ	
Genotipo	N.	Genotipo	N.	Genotipo	N.	Genotipo	N.
A2/A3	2	B51, B51/ B13 o B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 o DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 o B7/B15	1	DR7/DR15	2	DQ2/DQ5	1
A1/A2	2	B7/B18	1	DR4/DR15	1	DQ2/DQ5	2
A30/A68	1	B7/B44	1	DR4/DR7	1	DQ3	1
A2/A32	1	Altro	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Altro	0			DR15	1	Altro	0
				DR1/DR7	1		
				Altro	0		

Il sangue intero è stato raccolto da singoli donatori e il DNA genomico è stato purificato da 200 µl di sangue intero mediante l'uso del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Utilizzando le analisi Dynal AllSet+™ SSP (Dynal Biotech), sono stati identificati gli alleli nei loci indicati nel numero di soggetti stabilito. **N.:** numero di soggetti.

Tabella 3. Genotipizzazione del fattore V di Leiden (FV) mediante utilizzo del kit di rilevazione di mutazioni del fattore V di Leiden LightCycler®

Genotipo	Numero
Riferimento	17
FV G16191 A eterozigote	13
FV G16191 A omozigote	0

Il sangue intero è stato raccolto da 30 singoli donatori e il DNA genomico è stato purificato da 200 μ l di sangue intero mediante l'uso del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Lo stato allelico nel loco FV G1691 A è stato determinato mediante l'utilizzo del kit di rilevazione di mutazioni del fattore V di Leiden LightCycler (gruppo Roche).

Tabella 4. Genotipizzazione del fattore V di Leiden (FV) mediante utilizzo di PCR endpoint e analisi Pyrosequencing® con kit di reagenti PSQ-96 SNP su sistema Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotipo	Numero
Riferimento	17
FV G16191 A eterozigote	13
FV G16191 A omozigote	0

Il sangue intero è stato raccolto da 30 singoli donatori e il DNA genomico è stato purificato da 200 μ l di sangue intero mediante l'uso del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Lo stato allelico nel loco FV G1691 A è stato determinato mediante l'utilizzo di PCR endpoint e analisi Pyrosequencing con il kit di reagenti PSQ-96 SNP sul sistema Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabella 5. Genotipizzazione della protrombina (PT) mediante utilizzo di PCR endpoint e analisi Pyrosequencing con kit di reagenti PSQ-96 SNP su sistema Pyrosequencing PSQ 96MA

Genotipo	Numero
Riferimento	30
PT G20210A eterozigote	0
PT G20210A omozigote	0

Il sangue intero è stato raccolto da 30 singoli donatori e il DNA genomico è stato purificato da 200 μ l di sangue intero mediante l'uso del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Lo stato allelico nel loco PT G20210A è stato determinato mediante l'utilizzo di PCR endpoint e analisi Pyrosequencing con il kit di reagenti PSQ-96 SNP sul sistema Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabella 6. Analisi dei polimorfismi T112C e C158T del gene ApoE mediante utilizzo di PCR endpoint, con sequenziamento dell'amplicone mediante kit di sequenziamento dei cicli di reazioni pronte BigDye™ v1.1 e separazione su analizzatore genetico ABI PRISM® 3100

Genotipo	Numero
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Altro	0

Il sangue intero è stato raccolto da 10 singoli donatori e il DNA genomico è stato purificato da 200 μ l di sangue intero mediante l'uso del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. L'analisi dei polimorfismi T112C e C158T del gene ApoE è stata eseguita mediante l'utilizzo di PCR endpoint, con sequenziamento dell'amplicone mediante kit di sequenziamento dei cicli di reazioni pronte BigDye v1.1 e separazione su analizzatore genetico ABI PRISM 3100 (Life Technologies Corporation).

Tabella 7. Effetti sulla reazione di PCR dei volumi di eluizione e dell'eluato utilizzato in PCR

Volume di eluizione	Volume di eluato per 50 μ l PCR*		
	2 μ l	5 μ l	10 μ l
50 μ l	100%	100%	100%
100 μ l	100%	100%	97%
200 μ l	100%	100%	100%

* I valori mostrano la % di risultati positivi in analisi PCR e rappresentano la media di 48 campioni.

Stabilità dell'eluato

Nei test di conservazione con eluati generati mediante l'utilizzo del kit QIAamp DNA Blood Mini (kit di laboratorio per uso generico basato sulla stessa tecnologia), è stato dimostrato che il DNA eluito dalle QIAamp Mini Spin Column con il tampone AE è stabile fino a 8 anni se conservato a 5°C o a -20°C (Figura 6). Tuttavia, sono attualmente in corso studi a lungo termine sulla stabilità degli eluati ottenuti con il kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.

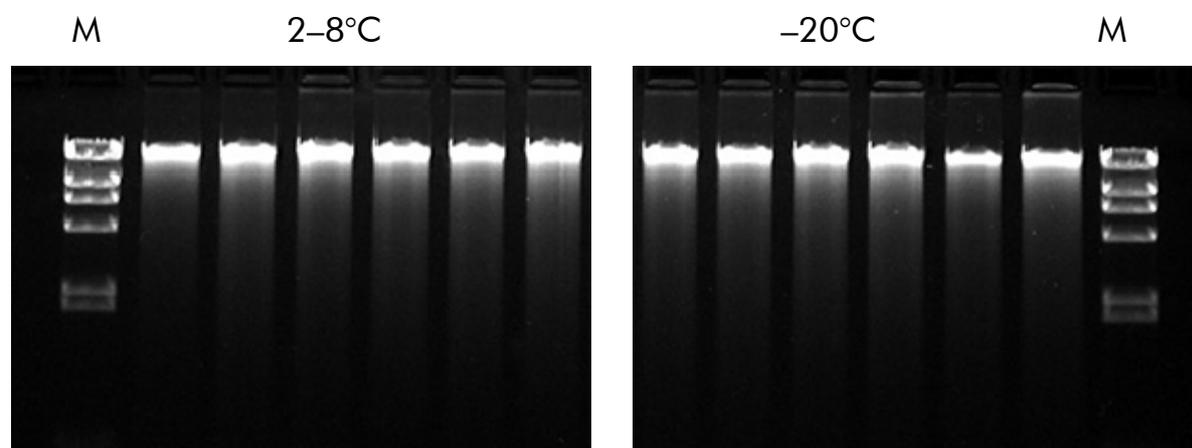


Figura 6. Stabilità a lungo termine del DNA isolato e purificato mediante utilizzo di QIAamp Mini Spin Column. Il DNA è stato purificato utilizzando il kit QIAamp DNA Blood Mini, eluito in 200 μ l di tampone AE e conservato a 2-8°C o -20°C per 8 anni. I campioni di DNA sono stati analizzati su un gel di agarosio colorato con bromuro di etidio. **M:** marker.

Simboli



Il kit contiene reagenti per <N> preparazioni



Data di scadenza



Dispositivo medico per diagnostica in vitro



Al momento della consegna



Aprire alla consegna; conservare le QIAamp Mini Spin Column a 2–8°C



Numero di catalogo



Numero di lotto



Numero di materiale



Componenti



Contiene



Numero



Volume



Limite di temperatura



Produttore



Scrivere la data corrente dopo aver aggiunto etanolo al flacone



Aggiunta

LYOPH	Liofilizzato
RCNS	Ricostituito in
EtOH	Etanolo
GuHCl	Idrocloruro di guanidina
SUBT	Subtilisina
	Porta a
	Fare riferimento alle informazioni riportate nel manuale
	Nota importante

Riferimenti bibliografici

QIAGEN possiede un'ampia banca dati online continuamente aggiornata con le pubblicazioni scientifiche riguardanti i prodotti QIAGEN. Le opzioni di ricerca specifiche consentono di trovare gli articoli necessari sia tramite parole chiave sia specificando l'applicazione, l'area di ricerca, il titolo ecc.

Per un elenco bibliografico completo, visitare il sito QIAGEN Reference Database www.qiagen.com/RefDB/search.asp o contattare il centro di assistenza tecnica QIAGEN o il distributore locale.

Informazioni sui contatti

QIAGEN è orgogliosa della qualità e della disponibilità del proprio supporto tecnico. Il nostro reparto di assistenza tecnica è composto da scienziati esperti che hanno alle spalle una lunga esperienza maturata a livello pratico e teorico nelle tecnologie per campioni e analisi e nell'impiego dei prodotti QIAGEN. Per rivolgere domande o in caso di difficoltà nell'uso del kit QIAamp DSP DNA Blood Mini o dei prodotti QIAGEN in generale, non esitate a contattarci.

I clienti QIAGEN sono la fonte principale di informazioni relative all'uso avanzato o specializzato dei nostri prodotti. Tali informazioni sono utili sia agli altri ricercatori che a quelli della QIAGEN. Pertanto, vi esortiamo a contattarci qualora abbiate suggerimenti sulle prestazioni dei prodotti o su nuove applicazioni e tecniche.

Per ricevere assistenza tecnica e ulteriori informazioni, potete consultare il nostro sito www.qiagen.com/Support o contattare il servizio assistenza tecnica QIAGEN o il distributore locale (consultate il retro della copertina o il sito www.qiagen.com).

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

Informazioni per gli ordini

Prodotto	Sommario	N. cat.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Per 50 preparazioni del DNA: QIAamp Mini Spin Column, VacConnector, proteasi QIAGEN, reagenti, tamponi e provette per la raccolta	61104
Accessori		
Collettore da vuoto QIAvac 24 Plus*	Collettore da vuoto per processare 1–24 Spin Column: Collettore da vuoto QIAvac 24 Plus, tappi luer, raccordi rapidi	19413
Vacuum Pump*	Pompa da vuoto universale	84020

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti, consultare il manuale del kit QIAGEN specifico. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili nel sito www.qiagen.com, oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al proprio distributore locale.

* Da utilizzare con i protocolli per il vuoto.

Marchi commerciali: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, artus®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); ABI PRISM®, BigDye™ (Life Technologies Corporation); BD™, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One); Dynal®, AllSet™ (Dynal Biotech); Eppendorf® (Eppendorf AG); LightCycler® (Roche Group); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). I marchi, nomi registrati ecc. utilizzati nel presente documento, anche se non contrassegnati specificamente come tali, vanno considerati protetti dalla legge.

Contratto di Licenza Limitato per il kit QIAamp DSP DNA Blood Mini

L'uso di questo prodotto implica l'accettazione da parte dell'acquirente o dell'utente del prodotto dei seguenti termini:

1. Questo prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e al presente manuale e soltanto con i componenti contenuti nel kit. QIAGEN non concede alcuna licenza, in relazione a qualunque proprietà intellettuale, per l'uso o l'aggiunta dei componenti del kit ad altri componenti non contenuti nel kit, ad eccezione di quanto descritto nei protocolli forniti insieme al prodotto, nel presente manuale e nei protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com. Alcuni di questi protocolli aggiuntivi sono stati forniti da utenti QIAGEN per altri utenti QIAGEN. Tali protocolli non sono stati completamente testati od ottimizzati da QIAGEN. QIAGEN non garantisce in alcun modo che non violino i diritti di terze parti.
2. Se non espressamente dichiarato nelle licenze, QIAGEN non garantisce in alcun modo che questi kit e/o il relativo impiego non violino i diritti di terze parti.
3. Il presente kit e i relativi componenti sono concessi in licenza per l'impiego monouso e non possono essere riutilizzati, ripristinati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del kit concordano nel non consentire a nessuno di intervenire o consentire ad altri di realizzare o contribuire a realizzare azioni proibite. QIAGEN può imporre presso qualunque tribunale i divieti del presente Contratto di Licenza Limitato e recupererà tutte le spese di indagine e spese legali, comprese le parcelle degli avvocati, in qualunque azione per imporre il presente Contratto di Licenza Limitato o qualsiasi diritto di proprietà intellettuale correlato al kit e/o ai suoi componenti.

Per le condizioni di licenza aggiornate, consultare il sito www.qiagen.com.

© 2012 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

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

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

