

Manuel du kit QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini



Version 2



Pour utilisation en diagnostic in vitro



61104



1071108FR



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

Tél. : +49-2103-29-0

R2



1071108FR



Technologies d'échantillons et d'analyses QIAGEN

QIAGEN est le premier fournisseur de technologies novatrices de traitement des échantillons et des analyses pour l'isolation et la détection du contenu de n'importe quel échantillon biologique. Nos produits et services de pointe, de qualité élevée, garantissent un succès total, du prélèvement de l'échantillon jusqu'à l'obtention des résultats.

QIAGEN fait office de référence pour :

- la purification de l'ADN, de l'ARN et des protéines ;
- l'analyse des acides nucléiques et des protéines ;
- la recherche des microARN et l'ARNi ;
- l'automatisation des technologies de traitement des échantillons et des analyses.

Notre mission consiste à permettre à nos clients d'atteindre des résultats remarquables et d'accomplir des progrès décisifs. Pour plus d'informations, visitez le site www.qiagen.com.

Sommaire

Utilisation prévue	4
Résumé et explication	4
Lyse des cellules sanguines	5
Fixation de l'ADN génomique à la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini	5
Purification automatisée	6
Matériel fourni	8
Contenu du kit	8
Matériel nécessaire non fourni	9
Informations de sécurité	10
Conservation et manipulation des réactifs	12
Manipulation et conservation des échantillons	13
Remarques importantes	15
Remarques préliminaires importantes	15
Préparation des réactifs et tampons	15
Manipulation des colonnes de centrifugation QIAamp Mini	16
Élution de l'ADN génomique	17
Rendement et qualité de l'ADN génomique	17
Configuration du système à vide QIAvac 24 Plus	18
Protocoles	
■ Isolation et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang au moyen d'un système à vide	20
■ Isolation et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang au moyen d'une microcentrifugeuse	24
Contrôle qualité	27
Caractéristiques de performance	27
Performance des analyses en aval	28
Symboles	33
Références	34
Coordonnées	35
Pour commander	36

Utilisation prévue

Le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini est un système ayant recours à la technologie des membranes de silice (QIAamp) pour l'isolation et la purification de l'ADN génomique à partir d'échantillons biologiques.

Ce produit est destiné aux professionnels, tels que les techniciens et les médecins, formés aux techniques de la biologie moléculaire.

Le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini est destiné à une utilisation en diagnostic in vitro.

Résumé et explication

Le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini a recours à une technologie bien établie qui permet d'isoler et de purifier rapidement et en toute simplicité l'ADN génomique à partir de 200 µl de sang total.

Les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini, développées pour le traitement simultané de plusieurs échantillons de sang, permettent d'obtenir de l'ADN purifié prêt à l'emploi. Les procédures sont compatibles avec des échantillons de sang total et de sang frais ou congelé traités à l'EDTA ou au citrate.

Les procédures simples de centrifugation et d'aspiration sous vide QIAamp DSP sont adaptées au traitement simultané de plusieurs échantillons. Certaines procédures de centrifugation QIAamp peuvent être entièrement automatisées sur le QIAcube® pour une amélioration de la normalisation et de la facilité d'utilisation (voir la page 6).

Il n'est pas nécessaire de séparer les leucocytes au préalable. Les procédures n'impliquent pas d'extraction au phénol/chloroforme ni de précipitation par l'éthanol. De plus, l'interaction avec l'utilisateur est minime, ce qui permet de manipuler les échantillons potentiellement infectieux en toute sécurité. Les procédures sont conçues pour limiter la contamination croisée d'un échantillon à l'autre. L'ADN purifié est prêt à l'emploi pour l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) ou d'autres applications. Il peut également être conservé à une température comprise entre -25 °C et -15 °C pour une utilisation ultérieure.

Principes de la procédure

Chaque procédure QIAamp DSP DNA Blood Mini comprend 4 étapes :

- la lyse des cellules dans l'échantillon de sang
- la fixation de l'ADN génomique du lysat cellulaire à la membrane d'une colonne de centrifugation QIAamp Mini
- le lavage de la membrane
- l'élution de l'ADN génomique à partir de la membrane

Ce manuel contient les protocoles pour deux procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini : la procédure de centrifugation réalisée à l'aide d'une centrifugeuse et la procédure d'aspiration sous vide menée à bien à l'aide d'un système à vide (voir le schéma, page 7).

Lyse des cellules sanguines

Les échantillons sont lysés dans des conditions dénaturantes, à température élevée. La lyse est réalisée en présence de Protéase QIAGEN (QP) et de tampon de lyse (AL).

Fixation de l'ADN génomique à la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini

Afin d'optimiser la fixation de l'ADN génomique à la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, de l'éthanol est d'abord ajouté au lysat. Chaque lysat est ensuite transféré sur une colonne de centrifugation QIAamp Mini. L'ADN génomique est adsorbé sur la membrane de silice alors que le lysat passe à travers la membrane sous l'effet d'une dépression ou de la force centrifuge.

Purification automatisée

La purification de l'ADN au moyen du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini peut être entièrement automatisée sur le QIAcube. Cet automate innovant utilise une technologie de pointe pour le traitement des colonnes de centrifugation QIAGEN, ce qui permet d'intégrer en douceur la préparation automatisée à faible débit des échantillons au flux de travail du laboratoire. La procédure de préparation des échantillons avec le QIAcube suit les mêmes étapes que la procédure manuelle (à savoir : lyse, fixation, lavage et élution), ce qui permet de continuer à utiliser le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini pour la purification de l'ADN de haute qualité.

Pour en savoir plus sur la procédure automatisée, voir la fiche du protocole correspondant, disponible à l'adresse www.qiagen.com/MyQIAcube. Les fiches de protocole mises à jour peuvent être téléchargées gratuitement ou être obtenues après du Service technique QIAGEN (voir la page 35).

En cas d'automatisation du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini sur l'appareil QIAcube, ce dernier risque de procéder à moins de 50 échantillons pour des raisons de volumes morts, d'évaporation et de consommation supplémentaire de réactif par le pipetage automatisé. QIAGEN ne garantit que 50 préparations d'échantillons en cas d'utilisation manuelle du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.



Figure 1. QIAcube.

**Procédures de centrifugation et
d'aspiration sous vide QIAamp DSP
DNA Blood Mini**

Procédure de centrifugation QIAamp

Échantillon



Lyse



Fixation



Lavage
(Tampon AW1)



Lavage
(Tampon AW2)

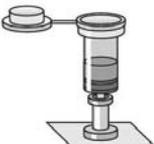


Élution

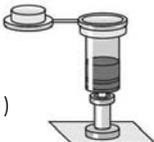


Procédure d'aspiration sous vide QIAamp

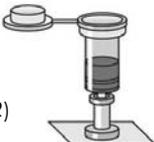
Échantillon



Vide



Vide



Vide



Avant de commencer, lire attentivement les protocoles (pages 22 et 26).

Dans un tube LT, déposer 20 µl de QP, 200 µl d'échantillon et 200 µl d'AL.

Mélanger énergiquement au vortex pendant 15 secondes.

Incuber pendant 10 minutes (± 1 minute) à 56 °C (± 1 °C).

Ajouter 200 µl d'éthanol.

Mélanger énergiquement au vortex pendant 15 secondes.

Transférer le lysat vers la colonne de centrifugation QIAamp Mini.

Procédure de centrifugation : centrifuger 1 minute à 6 000 x g.

Procédure d'aspiration sous vide : appliquer le vide.

Procédure de centrifugation : placer une colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube WT, ajouter 500 µl d'AW1 et centrifuger 1 minute à 6 000 x g.

Procédure d'aspiration sous vide : ajouter 750 µl d'AW1 et appliquer le vide.

Procédure de centrifugation : placer une colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube WT, ajouter 500 µl d'AW2 et centrifuger 1 minute à vitesse maximale (environ 20 000 x g ou 14 000 tr/min).

Procédure d'aspiration sous vide : ajouter 750 µl d'AW2 et appliquer le vide.

Placer une colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube WT

Centrifuger 3 minutes à vitesse maximale (environ 20 000 x g ou 14 000 tr/min).

Placer une colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un tube ET.

Ajouter 50 à 200 µl d'AE et incuber 1 minute.

Centrifuger 1 minute à 6 000 x g.

ADN génomique ou viral pur

Matériel fourni

Contenu du kit

Kit QIAamp DSP DNA Blood Mini			
Référence			61104
Nombre de préparations			50*
QIAamp Mini Spin	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (Colonnes de centrifugation QIAamp Mini avec tubes de lavage) (WT) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Tubes d'éluion) (1,5 ml)		50
VC	VacConnectors (Raccords pour vide)		50
LT	Lysis Tubes (Tubes de lyse) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Tubes de lavage) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer (Tampon de lyse) [†]		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 [†] (concentrate) (Tampon de lavage 1 [concentré])		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 [†] (concentrate) (Tampon de lavage 2 [concentré])		13 ml
AE	Elution Buffer [‡] (Tampon d'éluion)		25 ml
PS	Protease Solvent [‡] (Solvant de protéase)		2 ml
QP	QIAGEN Protease [§] (Protéase QIAGEN)		1 flacon
	CD		1
	Manuel		1

* En cas d'automatisation du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini sur l'appareil QIAcube, ce dernier risque de procéder à moins de 50 échantillons pour des raisons de volumes morts, d'évaporation et de consommation supplémentaire de réactif par le pipetage automatisé. QIAGEN ne garantit que 50 préparations d'échantillons en cas d'utilisation manuelle du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.

† Contient du chlorure de guanidine. Incompatible avec les désinfectants contenant de l'eau de Javel. Pour plus d'informations, voir la page 11.

‡ Contient de l'azide de sodium comme conservateur.

§ Le volume de resuspension est de 1,2 ml. Voir « Préparation de la Protéase QIAGEN » à la page 15.

Matériel nécessaire non fourni

En cas de manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées, disponibles auprès du fournisseur du produit.

Pour les procédures de centrifugation et d'aspiration sous vide

- Éthanol (96 à 100 %)
- Pipettes* et cônes (il est fortement recommandé d'utiliser des cônes à filtre de protection contre les aérosols afin d'éviter toute contamination croisée)
- Gants jetables
- Bloc chauffant* pour la lyse des échantillons à 56 °C (il est recommandé d'utiliser le Thermomixer comfort Eppendorf® avec bloc chauffant pour les microtubes à essais† de 1,5 ml)
- Microcentrifugeuse*
- Éprouvette (50 ml)
- Agitateur-mélangeur vortex

Pour la procédure d'aspiration sous vide uniquement

- Système à vide QIAvac 24 Plus (QIAvac 24 Plus, réf. 19413 ; système de connexion QIAvac, réf. 19419 et pompe à vide, réf. 84020) ou système à vide équivalent général de laboratoire

* Afin de s'assurer du bon traitement des échantillons au cours des procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini, il est fortement recommandé de calibrer tous les instruments (par exemple les pipettes et les blocs chauffants) selon les recommandations du fabricant.

† Cette liste de fournisseurs n'est pas exhaustive et ne mentionne pas de nombreux fournisseurs de fournitures biologiques figurant parmi les plus importants.

Informations de sécurité

En cas de manipulation de produits chimiques, toujours porter une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN sont disponibles et peuvent être consultées et imprimées en ligne au format PDF (pratique et compact) à l'adresse www.qiagen.com/support/MSDS.aspx.

ATTENTION : NE PAS verser de solution à base d'eau de Javel ou d'acide directement sur les déchets issus de la préparation d'échantillons.

Le tampon de lyse (AL) et le tampon de lavage 1 (AW1) contiennent du chlorhydrate de guanidine susceptible de former des composés hautement réactifs au contact de l'eau de Javel. En cas de déversement de liquide contenant ces tampons, nettoyer avec un détergent de laboratoire adapté et de l'eau. Si le liquide renversé contient des agents potentiellement infectieux, nettoyer l'endroit contaminé d'abord avec un détergent de laboratoire et de l'eau, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 1 % (v/v). Si les flacons des tampons sont abîmés ou fument, porter des gants et des lunettes de sécurité au moment de les jeter afin d'éviter tout risque de blessure.

QIAGEN n'a pas testé la présence de matières infectieuses résiduelles dans les déchets liquides générés par les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini. Une contamination des déchets liquides par des matières infectieuses résiduelles est peu probable, mais ne peut pas être complètement exclue. Par conséquent, les déchets liquides doivent être considérés infectieux et être traités et éliminés selon les réglementations de sécurité locales.

Les mentions de risque et de sécurité suivantes s'appliquent aux composants du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini.

Tampon de lyse (AL) et tampon de lavage 1 (AW1)



Contient du chlorhydrate de guanidine : nocif, irritant. Mentions de risque et de sécurité :* R22-36/38, S13-26-36-46.

Protéase QIAGEN (QP)



Contient de la subtilisine : agent sensibilisant, irritant. Mentions de risque et de sécurité :* R37/38-41-42, S22-24-26-36/37/39-46.

Service d'urgences 24h/24

Des informations médicales d'urgence en anglais, en français et en allemand peuvent être obtenues 24 heures sur 24 auprès du :

Centre d'information Antipoison, Mayence, Allemagne

Tél. : +49-6131-19240

* R22 : Nocif en cas d'ingestion ; R36/38 : Irritant pour les yeux et la peau ; R37/38 : Irritant pour les voies respiratoires et la peau ; R41 : Risque de lésions oculaires graves ; R42 : Peut entraîner une sensibilisation par inhalation ; S13 : Conserver à l'écart des aliments et boissons, y compris ceux pour animaux ; S22 : Ne pas respirer les poussières ; S24 : Éviter le contact avec la peau ; S26 : En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste ; S36 : Porter un vêtement de protection approprié ; S36/37/39 : Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage ; S46 : En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.

Conservation et manipulation des réactifs

Les colonnes de centrifugation QIAamp Mini doivent être conservées à une température comprise entre 2 et 8 °C dès leur arrivée et peuvent être utilisées jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur la boîte du kit.

Tous les tampons peuvent être conservés à température ambiante (15 à 25 °C) jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur la boîte du kit.

La Protéase QIAGEN (QP) lyophilisée peut être conservée à température ambiante (15 à 25 °C) jusqu'à la date limite d'utilisation du kit sans altération de ses performances. La Protéase QIAGEN reconstituée est stable pendant une période maximale d'un an en cas de conservation à une température comprise entre 2 et 8 °C, mais uniquement jusqu'à la date limite d'utilisation du kit.

Le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué et le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué sont stables pendant une période maximale d'un an en cas de conservation à température ambiante (15 à 25 °C), mais uniquement jusqu'à la date limite d'utilisation du kit.

Manipulation et conservation des échantillons

Les cryoprécipités formés au cours de la décongélation des échantillons congelés risquent d'obstruer la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini. Si des cryoprécipités sont visibles, éviter de les aspirer au cours de l'aspiration de l'échantillon. Les effets de la congélation/décongélation des échantillons de sang sur la purification de l'ADN avec le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini ont été déterminés (voir la Figure 2).

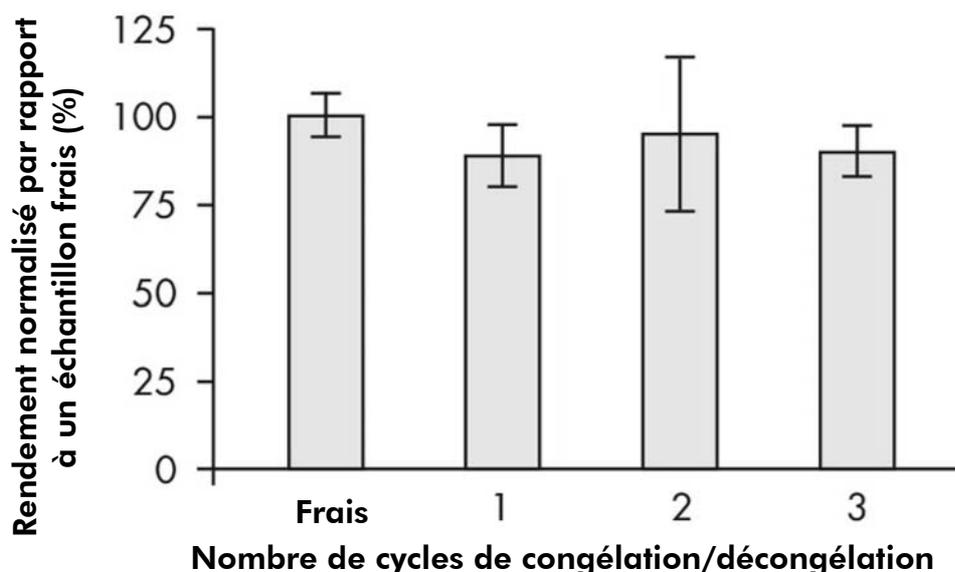


Figure 2. Effets de la congélation/décongélation des échantillons de sang. Du sang traité à l'EDTA a été congelé et décongelé jusqu'à 3 fois. L'ADN a ensuite été purifié à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Les rendements d'ADN calculés ont été normalisés par rapport au rendement d'un échantillon frais (100 %). Chaque barre de l'histogramme représente les résultats de 32 expériences effectuées en parallèle (moyenne \pm variation standard).

La quantité d'ADN purifié dans le cadre des procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini dépend de la teneur en globules blancs de chaque échantillon de sang. À l'aide de la procédure de centrifugation ou d'aspiration sous vide, l'ADN génomique est purifié à partir d'échantillons de 200 µl de sang prélevé sur des donneurs sains. Plusieurs tubes primaires et anticoagulants peuvent être utilisés pour prélever les échantillons de sang destinés aux procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini (Tableau 1).

Tableau 1. Rendements relatifs moyens de l'ADN des échantillons de sang prélevés à l'aide de divers tubes primaires et anticoagulants

Tube primaire	Fabricant	Référence	Volume nominal	Rendement moyen*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 µg
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 µg
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 µg
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 µg
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 µg
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6,5 µg
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6,3 µg

L'ADN génomique a été purifié à partir d'échantillons de 200 µl de sang prélevé sur des donneurs sains (4,0 x 10⁶ cellules par ml à 9,0 x 10⁶ cellules par ml).

* Pour chaque tube primaire, le rendement moyen a été déterminé à partir de 11 échantillons en triple.

Élimination des résidus de contaminants

Alors que l'ADN génomique reste fixé sur la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, les contaminants sont éliminés de manière efficace par lavage, d'abord par le tampon de lavage 1 (AW1), puis par le tampon de lavage 2 (AW2).

Élution de l'ADN génomique pur

L'ADN génomique est élué de la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini à l'aide de 50 à 200 µl de tampon d'éluion (AE). L'ADN élué est prêt à être utilisé dans le cadre de diverses analyses en aval, y compris différentes analyses de diagnostic in vitro en aval.

Remarques importantes

Remarques préliminaires importantes

- Après réception du kit, vérifier que les éléments du kit ne sont pas endommagés. Si les emballages blister ou les flacons de tampon sont endommagés, contacter le Support technique QIAGEN ou le distributeur local. Si du liquide a été renversé, se reporter aux « Informations de sécurité » (page 10). Ne pas utiliser de composants endommagés. Leur utilisation risque d'engendrer une détérioration des performances du kit.
- Toujours remplacer les cônes des pipettes entre chaque transfert de liquide. Afin de limiter les contaminations croisées, il est recommandé d'utiliser des cônes à filtre de protection contre les aérosols.
- Toutes les étapes de centrifugation sont menées à bien à température ambiante (15 à 25 °C).
- Toujours utiliser des gants jetables et s'assurer régulièrement qu'ils ne sont pas contaminés par l'échantillon. Jeter les gants s'ils sont contaminés.
- N'ouvrir qu'un tube à la fois afin de limiter les risques de contamination croisée.
- Ne pas utiliser, avec le kit en cours d'utilisation, de composants issus de kits différents, à moins que le numéro du lot ne soit identique.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs du kit.
- Afin de limiter les risques d'infection par des matières potentiellement infectieuses, il est recommandé de travailler dans des conditions de flux laminaire jusqu'à ce que les échantillons soient lysés.
- Le kit doit uniquement être utilisé par du personnel formé aux pratiques d'un laboratoire de diagnostic in vitro.

Préparation des réactifs et tampons

■ Préparation de la Protéase QIAGEN

Ajouter 1,2 ml de solvant de protéase (PS) dans le flacon de protéase QIAGEN (QP) lyophilisée et mélanger avec précaution. Pour éviter que le mélange ne mousse, mélanger en retournant plusieurs fois le flacon. Vérifier que la Protéase QIAGEN (QP) est entièrement dissoute.

- ⓘ Ne pas ajouter la Protéase QIAGEN (QP) directement sur le tampon de lyse (AL).

■ Préparation du tampon de lavage 1

À l'aide d'une éprouvette, ajouter 25 ml d'éthanol (96 à 100 %) dans le flacon contenant 19 ml de tampon de lavage 1 (AW1) concentré. Conserver le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué à température ambiante (15 à 25 °C).

ⓘ Avant de commencer la procédure, toujours mélanger le tampon de lavage 1 (AW1) reconstitué en retournant plusieurs fois le flacon.

■ Préparation du tampon de lavage 2

À l'aide d'une éprouvette, ajouter 30 ml d'éthanol (96 à 100 %) dans le flacon contenant 13 ml de tampon de lavage 2 (AW2) concentré. Conserver le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué à température ambiante (15 à 25 °C).

ⓘ Avant de commencer la procédure, toujours mélanger le tampon de lavage 2 (AW2) reconstitué en retournant plusieurs fois le flacon.

■ Préparation du tampon d'élution

Le kit comprend un flacon de tampon d'élution (AE). Afin d'éviter toute contamination du tampon d'élution (AE), il est fortement recommandé non seulement d'utiliser des cônes à filtre de protection contre les aérosols pour le pipetage du tampon d'élution (AE), mais également de refermer immédiatement le flacon.

ⓘ Le tampon d'élution (AE) contient de l'azide de sodium comme agent de conservation. Son absorbance est de 260 nm. Par conséquent, vérifier que le blanc contient la même concentration d'azide de sodium que l'éluat lors de la quantification de l'ADN dans l'éluat par mesure de l'absorbance à 260 nm, lors de la détermination de la pureté de l'ADN dans l'éluat par mesures de l'absorbance à 260 nm et 280 nm ou lors du balayage de l'absorbance dans la plage de 220 nm à 350 nm. Par exemple, en cas de préparation de l'éluat pour une mesure de l'absorbance en diluant 50 µl d'éluat dans 100 µl d'eau, il convient de préparer le blanc en diluant 50 µl de tampon d'élution (AE) dans 100 µl d'eau. Pour les dilutions, utiliser de l'eau fraîche et distillée.

Manipulation des colonnes de centrifugation QIAamp Mini

En raison de la sensibilité des technologies d'amplification des acides nucléiques, il est nécessaire de prendre les précautions suivantes lors de la manipulation des colonnes de centrifugation QIAamp Mini afin d'éviter toute contamination croisée entre les préparations d'échantillons :

- Transférer avec précaution l'échantillon ou la solution vers la colonne de centrifugation QIAamp Mini. Déposer l'échantillon dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini à l'aide d'une pipette sans mouiller le bord de la colonne.
- Toujours remplacer les cônes des pipettes entre chaque transfert de liquide. Il est recommandé d'utiliser des cônes à filtre de protection contre les aérosols.
- Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette.
- Après toutes les étapes d'homogénéisation par impulsions au vortex, centrifuger brièvement les tubes de microcentrifugation afin d'éliminer les gouttes présentes à l'intérieur des capuchons.
- Ouvrir une seule colonne de centrifugation QIAamp Mini à la fois et prendre garde à ne pas générer d'aérosols.
- Porter des gants pendant toute la procédure. En cas de contact des gants avec l'échantillon, les changer immédiatement.

Élution de l'ADN génomique

Le volume d'ADN élué d'une colonne de centrifugation QIAamp Mini peut être inférieur de 20 µl maximum par rapport au volume de tampon d'élution (AE) déposé sur la colonne. Le volume d'éluat récupéré dépend de la nature de l'échantillon. Amener le tampon d'élution (AE) à température ambiante (15 à 25 °C) avant de le déposer sur la colonne. L'ADN élué est récolté dans les tubes d'élution (ET). En cas de conservation de l'ADN pour une période maximale de 4 semaines, il est recommandé de le conserver à une température comprise entre 2 et 8 °C. Pour une conservation à long terme, il est conseillé de le conserver à -20 °C.

Rendement et qualité de l'ADN génomique

Le rendement et la qualité de l'ADN génomique isolé sont adaptés à de nombreux types de procédures de détection en aval dans le domaine du diagnostic moléculaire. Les analyses diagnostiques doivent être réalisées selon les instructions du fabricant.

Configuration du système à vide QIAvac 24 Plus

S'assurer de correctement configurer la colonne de centrifugation QIAamp Mini, le raccord pour vide (VC) et la vanne de dépression (voir la Figure 3).

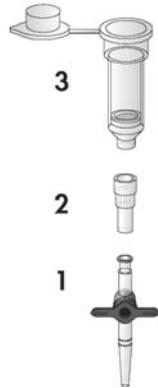


Figure 3. Assemblage des composants du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini pour le traitement sous vide des échantillons.

1. Vanne de dépression (fournie avec le système à vide)
2. Raccord pour vide (VC)
3. Colonne de centrifugation QIAamp Mini

En cas d'application de la procédure d'aspiration sous vide avec le système à vide QIAvac 24 Plus, il est recommandé d'étiqueter les tubes de lyse (LT), les tubes d'élution (ET) et les colonnes de centrifugation QIAamp Mini selon le schéma de la Figure 4 (voir la page suivante), afin d'éviter de mélanger les échantillons. Cette image peut être photocopiée afin d'y noter le nom des échantillons. Il est recommandé d'utiliser un schéma similaire avec d'autres systèmes à vide ou dans le cadre de la procédure de centrifugation.

Date : _____

Opérateur : _____

ID du cycle : _____

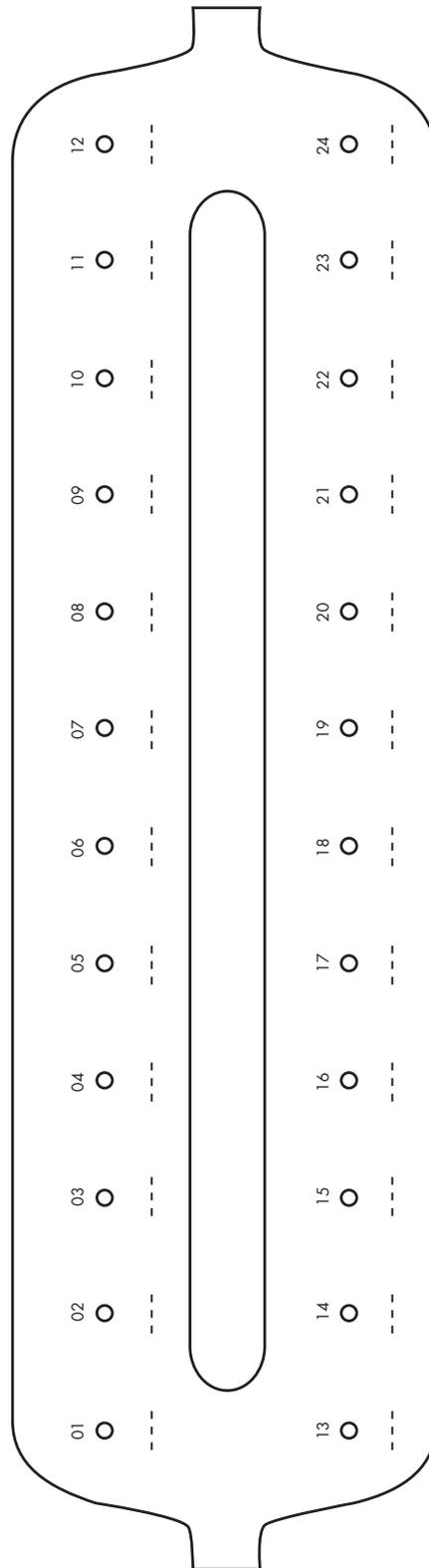


Figure 4. Schéma d'étiquetage des tubes de lyse (LT), des tubes d'élution (ET) et des colonnes de centrifugation QIAamp Mini utilisés sur le système à vide QIAvac 24 Plus.

Protocole : isolation et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang au moyen d'un système à vide

Isolation et purification de l'ADN génomique des échantillons de 200 µl de sang total traités à l'EDTA ou au citrate, avec un système à vide tel que le système à vide QIAvac 24 Plus.

Remarques importantes avant de commencer

- La procédure ci-dessous fournit des instructions pour le traitement d'un seul échantillon de sang. Il est toutefois possible de traiter simultanément sur le système à vide QIAvac 24 Plus jusqu'à 24 échantillons.

À faire avant de commencer

- Amener les échantillons de sang à température ambiante (15 à 25 °C) et vérifier qu'ils sont bien mélangés.
- Si nécessaire, dissoudre les précipités présents dans le tampon de lyse (AL) par incubation à 56 °C.
- Vérifier que le tampon de lavage 1 (AW1), le tampon de lavage 2 (AW2) et la Protéase QIAGEN (QP) ont bien été préparés selon les instructions de la section « Préparation des réactifs et tampons » aux pages 15 et 16.
- Amener le tampon d'élution (AE) à température ambiante (15 à 25 °C) pour l'étape 14.
- Préchauffer un bloc chauffant à 56 °C pour l'étape 4.
- Insérer un raccord pour vide (VC) dans chaque adaptateur Luer du système à vide pour limiter la contamination croisée.
- Les procédures de contrôle qualité QIAGEN impliquent une mise à l'essai pour chaque lot de kits. Par conséquent, il convient de ne pas mélanger les réactifs issus de différents lots de kits et de ne pas combiner les réactifs issus de différents lots de réactifs.
- Vérifier que le flacon à déchets du système à vide est vide et que tous les raccords sont bien connectés.
- Pour plus d'informations sur le fonctionnement du système à vide, plus particulièrement sur sa maintenance, se référer au manuel fourni avec le système.

Procédure

1. **Transférer à la pipette 20 µl de Protéase QIAGEN (QP) dans un tube de lyse (LT).**

i Avant de l'utiliser, vérifier la date d'expiration de la protéase reconstituée.

2. **Ajouter 200 µl d'échantillon de sang dans le tube de lyse (LT).**
3. **Ajouter 200 µl de tampon de lyse (AL) dans le tube de lyse (LT), fermer le capuchon et mélanger au moyen d'impulsions au vortex pendant 15 secondes.**

Pour assurer une lyse efficace, il est essentiel de bien mélanger l'échantillon et le tampon de lyse afin d'obtenir une solution homogène.

i Puisque le tampon de lyse (AL) présente une forte viscosité, s'assurer d'ajouter le bon volume de tampon de lyse (AL) en le déposant avec précaution au moyen d'une pipette ou en utilisant une pipette adaptée.

i Ne pas ajouter la Protéase QIAGEN (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).

4. **Incuber pendant 10 minutes (\pm 1 minute) à 56 °C (\pm 1 °C).**
5. **Centrifuger pendant 5 secondes ou plus le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour éliminer les gouttelettes accumulées à l'intérieur du capuchon.**
6. **Ajouter 200 µl d'éthanol (96 à 100 %) dans le tube de lyse (LT), fermer le capuchon et bien mélanger pendant 15 secondes ou plus au moyen d'impulsions au vortex.**
7. **Centrifuger pendant 5 secondes ou plus le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour éliminer les gouttelettes accumulées à l'intérieur du capuchon.**
8. **Insérer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans le raccord pour vide (VC) du système à vide. S'assurer que la principale vanne de dépression (entre le système à vide et le collecteur de vide) et la vanne du capuchon à vis (sur le collecteur de vide) sont fermées. Mettre la pompe à vide sous tension.**

Mettre au rebut le tube de lavage (WT) (2 ml) dans lequel la colonne de centrifugation QIAamp Mini est placée dans le blister.

Le vide est appliqué uniquement au système de connexion (le cas échéant), et non au collecteur de vide.

9. **Déposer avec précaution la totalité du lysat de l'étape 7 dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette.**

① Pour le traitement de plusieurs échantillons, n'ouvrir qu'un tube de lyse (LT) à la fois.

10. Ouvrir la principale vanne de dépression. Une fois le lysat passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la principale vanne de dépression et ouvrir la vanne du capuchon à vis du collecteur de vide afin de permettre l'évacuation du collecteur. Fermer la vanne du capuchon à vis une fois le vide du collecteur évacué.

Une fois la principale vanne de dépression fermée, le vide est appliqué uniquement au système de connexion (le cas échéant), et non au collecteur de vide.

① Utiliser la vanne du capuchon à vis du collecteur de vide pour évacuer rapidement le vide.

① Pour traiter plusieurs colonnes de centrifugation QIAamp Mini à la fois, il est recommandé de fermer la vanne de dépression de chaque colonne une fois le lysat passé, afin de réduire le temps de cette étape.

① Si le lysat n'est pas entièrement passé à travers la membrane au bout de 10 minutes, placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT), fermer le capuchon et centrifuger 3 minutes à 6 000 x g (8 000 tr/min) ou jusqu'à ce que le lysat soit complètement passé à travers la membrane. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un autre nouveau tube de lavage (WT) et continuer avec l'étape 10 du protocole de la page 25.

① Si le lysat ne passe toujours pas à travers la membrane pendant la centrifugation, mettre l'échantillon au rebut et répéter l'isolation et la purification avec un nouvel échantillon, en commençant avec l'étape 1 de la page 21.

11. Déposer 750 µl de tampon de lavage 1 (AW1) dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette. Laisser le capuchon de la colonne ouvert et ouvrir la principale vanne de dépression. Une fois le tampon de lavage 1 (AW1) passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la principale vanne de dépression et ouvrir la vanne du capuchon à vis afin de permettre l'évacuation du collecteur. Fermer la vanne du capuchon à vis une fois le vide du collecteur évacué.

12. Déposer 750 µl de tampon de lavage 2 (AW2) dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini

avec le cône de la pipette. Laisser le capuchon de la colonne ouvert et ouvrir la principale vanne de dépression. Une fois le tampon de lavage 2 (AW2) passé à travers la colonne de centrifugation QIAamp Mini, fermer la principale vanne de dépression et ouvrir la vanne du capuchon à vis afin de permettre l'évacuation du collecteur. Fermer la vanne du capuchon à vis une fois le vide du collecteur évacué.

13. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini, le retirer du système à vide et mettre le raccord pour vide (VC) au rebut. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et centrifuger 3 minutes à vitesse maximale (environ 20 000 x g ou 14 000 tr/min) pour sécher la membrane complètement.

i L'absence de centrifugation de séchage peut entraîner une inhibition de l'analyse en aval.

14. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube d'élution (ET) et mettre le tube de lavage (WT) contenant le filtrat au rebut. Ouvrir le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et déposer au centre de la membrane 50 à 200 µl de tampon d'élution (AE). Fermer le capuchon et incubé à température ambiante (15 à 25 °C) pendant 1 minute. Centrifuger pendant 1 minute à 6 000 x g (8 000 tr/min) afin d'éluer l'ADN.

i Une fois la procédure terminée, suivre les instructions de maintenance pour le système à vide (pour plus d'informations, se référer au manuel fourni avec le système à vide).

Protocole : isolation et purification de l'ADN génomique des échantillons de sang au moyen d'une microcentrifugeuse

Isolation et purification de l'ADN génomique à partir de 200 µl de sang total traité à l'EDTA ou au citrate, avec une microcentrifugeuse.

Remarques importantes avant de commencer

- La procédure ci-dessous fournit des instructions pour le traitement d'un seul échantillon de sang. Il est toutefois possible de traiter simultanément plusieurs échantillons. Le nombre dépend de la capacité de la microcentrifugeuse utilisée.

À faire avant de commencer

- Amener les échantillons de sang à température ambiante (15 à 25 °C) et vérifier qu'ils sont bien mélangés.
- Si nécessaire, dissoudre les précipités présents dans le tampon de lyse (AL) par incubation à 56 °C.
- Vérifier que le tampon de lavage 1 (AW1), le tampon de lavage 2 (AW2) et la Protéase QIAGEN (QP) ont bien été préparés selon les instructions de la section « Préparation des réactifs et tampons » aux pages 15 et 16.
- Amener le tampon d'éluion (AE) à température ambiante (15 à 25 °C) pour l'étape 15.
- Préchauffer un bloc chauffant à 56 °C pour l'étape 4.
- Les procédures de contrôle qualité QIAGEN impliquent une mise à l'essai pour chaque lot de kit. Par conséquent, il convient de ne pas mélanger les réactifs issus de différents lots de kits et de ne pas combiner les réactifs issus de différents lots de réactifs.

Procédure

- 1. Transférer à la pipette 20 µl de Protéase QIAGEN (QP) dans un tube de lyse (LT).**

 Avant de l'utiliser, vérifier la date d'expiration de la protéase reconstituée.

- 2. Ajouter 200 µl d'échantillon de sang dans le tube de lyse (LT).**
- 3. Ajouter 200 µl de tampon de lyse (AL) dans le tube de lyse (LT), fermer le capuchon et mélanger au moyen d'impulsions au vortex pendant 15 secondes.**

Pour assurer une lyse efficace, il est essentiel de bien mélanger l'échantillon et le tampon de lyse (AL) afin d'obtenir une solution homogène.

- ① Puisque le tampon de lyse (AL) présente une forte viscosité, s'assurer d'ajouter le bon volume de tampon de lyse (AL) en le déposant avec précaution au moyen d'une pipette ou en utilisant une pipette adaptée.
 - ① Ne pas ajouter la Protéase QIAGEN (QP) directement dans le tampon de lyse (AL).
4. **Incuber pendant 10 minutes (\pm 1 minute) à 56 °C (\pm 1 °C).**
 5. **Centrifuger pendant 5 secondes ou plus le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour éliminer les gouttelettes accumulées à l'intérieur du capuchon.**
 6. **Ajouter 200 μ l d'éthanol (96 à 100 %) dans le tube de lyse (LT), fermer le capuchon et bien mélanger pendant 15 secondes ou plus au moyen d'impulsions au vortex.**
 7. **Centrifuger pendant 5 secondes ou plus le tube de lyse (LT) à vitesse maximale pour éliminer les gouttelettes accumulées à l'intérieur du capuchon.**
 8. **Déposer avec précaution la totalité du lysat de l'étape 7 dans la colonne de centrifugation QIAamp Mini sans en mouiller le bord. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette.**
- ① Pour le traitement de plusieurs échantillons, n'ouvrir qu'un tube de lyse (LT) à la fois.
9. **Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini et centrifuger à environ 6 000 x g pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.**
- ① Si le lysat n'est pas complètement passé à travers la membrane après la centrifugation à 6 000 x g (8 000 tr/min), centrifuger encore 1 minute à vitesse maximale (jusqu'à 20 800 xg).
 - ① Si le lysat ne passe toujours pas à travers la membrane pendant la centrifugation, mettre l'échantillon au rebut et répéter l'isolation et la purification avec un nouvel échantillon, en commençant par l'étape 1 de la page 24.
10. **Ouvrir la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et ajouter 500 μ l de tampon de lavage 1 (AW1) sans mouiller le bord de la colonne. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette.**

- 11. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini et centrifuger à environ 6 000 x g pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.**
- 12. Ouvrir la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et ajouter 500 µl de tampon de lavage 2 (AW2) sans mouiller le bord de la colonne. Éviter de toucher la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec le cône de la pipette.**
- 13. Fermer le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini et centrifuger à vitesse maximale (environ 20 000 x g ou 14 000 tr/min) pendant 1 minute. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube de lavage (WT) et mettre le tube contenant le filtrat au rebut.**
- 14. Centrifuger pendant 3 minutes à vitesse maximale (environ 20 000 x g ou 14 000 tr/min) pour sécher la membrane complètement.**

 L'absence de centrifugation de séchage peut entraîner une inhibition de l'analyse en aval.

- 15. Placer la colonne de centrifugation QIAamp Mini dans un nouveau tube d'élution (ET) et mettre le tube de lavage (WT) contenant le filtrat au rebut. Ouvrir le capuchon de la colonne de centrifugation QIAamp Mini avec précaution et déposer au centre de la membrane 50 à 200 µl de tampon d'élution (AE). Fermer le capuchon et incubé à température ambiante (15 à 25 °C) pendant 1 minute. Centrifuger pendant 1 minute à environ 6 000 x g (8 000 tr/min) afin d'éluer l'ADN.**

Contrôle qualité

En accord avec le système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini est testé par rapport aux spécifications prédéterminées afin d'assurer une qualité constante du produit.

Limites

La performance du système a été établie à l'aide de sang total pour l'isolation de l'ADN génomique.

Il incombe aux utilisateurs de valider la performance du système pour toutes les procédures utilisées dans leur laboratoire non couvertes par les études de performance QIAGEN.

Afin de limiter les risques d'impact négatif sur les résultats diagnostiques, les contrôles adéquats doivent être utilisés pour les applications en aval. Pour une validation ultérieure, il est conseillé de suivre les directives de la Conférence internationale sur l'harmonisation des exigences techniques (ICH) exposées dans *ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures : Text And Methodology*.

Tous les résultats diagnostiques générés doivent être interprétés conjointement à d'autres résultats cliniques ou de laboratoire.

Caractéristiques de performance

Rendement de l'ADN purifié

L'échelle linéaire du rendement de l'ADN avec la procédure d'aspiration sous vide QIAamp DSP DNA Blood Mini a été déterminée à partir de sang prélevé sur des donneurs sains, avec un nombre de globules blancs compris entre $3,8 \times 10^6$ et $1,34 \times 10^7$ cellules/ml (voir la Figure 5, page 28).

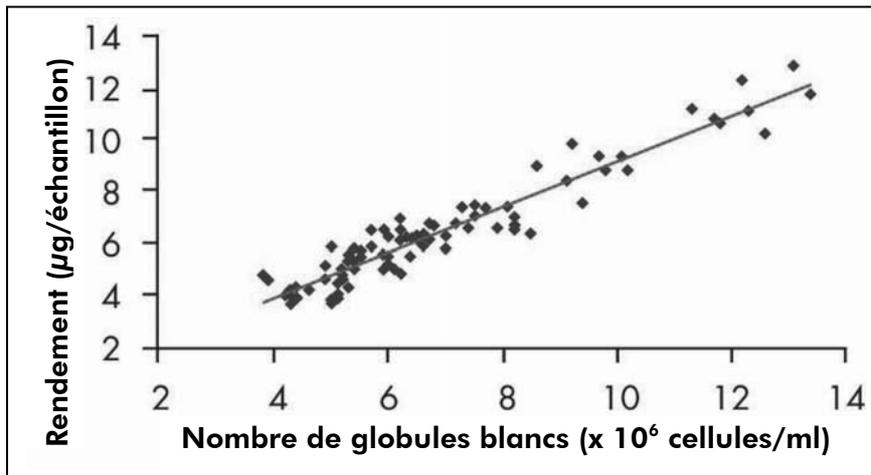


Figure 5. Échelle linéaire du rendement d'ADN avec la procédure d'aspiration sous vide QIAamp DSP DNA Blood Mini et 200 µl de volume d'élution. Le nombre de globules blancs présents dans le sang prélevé sur des donneurs sains a été déterminé et était compris entre $3,8 \times 10^6$ et $1,34 \times 10^7$ cellules/ml. L'ADN des échantillons de sang a été purifié à l'aide de la procédure d'aspiration sous vide QIAamp DSP DNA Blood Mini avec un volume d'élution de 200 µl. 87 échantillons ont été traités en triple.

Performance des analyses en aval

L'ADN génomique élué peut être utilisé dans différentes analyses en aval, y compris diverses analyses de diagnostic in vitro en aval (Tableaux 2 à 6). Les effets du volume d'élution et du volume d'éluat utilisé dans le cadre d'une amplification en chaîne par polymérase (PCR) sur la performance de cette dernière ont été déterminés (voir le Tableau 7).

Tableau 2. Typage HLA à l'aide des analyses SSP Dynal® AllSet⁺™ - HLA-A « Basse résolution », HLA-B « Basse résolution », DR « Basse résolution » et DQ « Basse résolution »

HLA locus A		HLA locus B		HLA locus DR		HLA locus DQ	
Génotype	N°	Génotype	N°	Génotype	N°	Génotype	N°
A2/A3	2	B51, B51/B13 ou B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 ou DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 ou 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	Autre	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Autre	0			DR15	1	Autre	0
				DR1/DR7	1		
				Autre	0		

Du sang total a été prélevé sur des donneurs et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Grâce aux analyses SSP Dynal AllSet⁺ (Dynal Biotech), des allèles ont été identifiés au loci indiqué pour un nombre d'individus donné. **N°** : nombre d'individus.

Tableau 3. Génotypage du facteur V de Leiden à l'aide du kit de détection de mutation du facteur V de Leiden LightCycler®

Génotype	Nombre
Sauvage	17
FV G16191 A hétérozygote	13
FV G16191 A homozygote	0

Du sang total a été prélevé sur 30 donneurs et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Le statut allélique au niveau du locus FV G1691 A a été déterminé à l'aide du kit de détection de mutation du facteur V de Leiden LightCycler (Groupe Roche).

Tableau 4. Génotypage du facteur V de Leiden (FV) à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse Pyrosequencing® avec kit PSQ-96 SNP-Reagent sur le Pyrosequencing PSQ 96MA

Génotype	Nombre
Sauvage	17
FV G16191 A hétérozygote	13
FV G16191 A homozygote	0

Du sang total a été prélevé sur 30 donneurs et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Le statut allélique au locus FV G1691 A a été déterminé à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse Pyrosequencing avec kit PSQ-96 SNP-Reagent sur le Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tableau 5. Génotypage de la prothrombine (PT) à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse Pyrosequencing avec kit PSQ-96 SNP-Reagent sur le Pyrosequencing PSQ 96MA

Génotype	Nombre
Sauvage	30
PT G20210A hétérozygote	0
PT G20210A homozygote	0

Du sang total a été prélevé sur 30 donneurs et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. Le statut allélique au locus PT G20210A a été déterminé à l'aide d'une PCR en point final et d'une analyse Pyrosequencing avec kit PSQ-96 SNP Reagent sur le Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tableau 6. Analyse des polymorphismes de l'ApoE T112C et C158T à l'aide d'une PCR en point final, avec séquençage de l'amplicon à l'aide du kit de séquençage du cycle de réaction BigDye™ v1.1 et d'une séparation sur le séquenceur ABI PRISM® 3100

Génotype	Nombre
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Autre	0

Du sang total a été prélevé sur 10 donneurs et l'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl de sang total à l'aide du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini. L'analyse des polymorphismes de l'ApoE T112C et C158T a été exécutée à l'aide d'une PCR en point final, avec séquençage de l'amplicon avec le kit de séquençage du cycle de réaction BigDye v1.1 et d'une séparation sur le séquenceur ABI PRISM 3100 (Life Technologies Corporation).

Tableau 7. Effets du volume d'éluat et du volume d'éluat utilisé dans le cadre de la PCR sur la performance de cette dernière

Volume d'éluat	Volume d'éluat par PCR de 50 μ l*		
	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 %

* Les valeurs indiquent le pourcentage de détection PCR et représentent 48 échantillons.

Stabilité de l'éluat

Les analyses de conservation de l'éluat réalisées avec le kit QIAamp DNA Blood Mini, kit de laboratoire général fondé sur la même technologie, ont démontré que l'ADN élué avec le tampon AE à partir de colonnes de centrifugation QIAamp Mini était stable 8 ans à 5 °C ou à -20 °C (Figure 6). Cependant, les études à long terme sur la stabilité de l'éluat menées à bien avec le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini sont en cours.

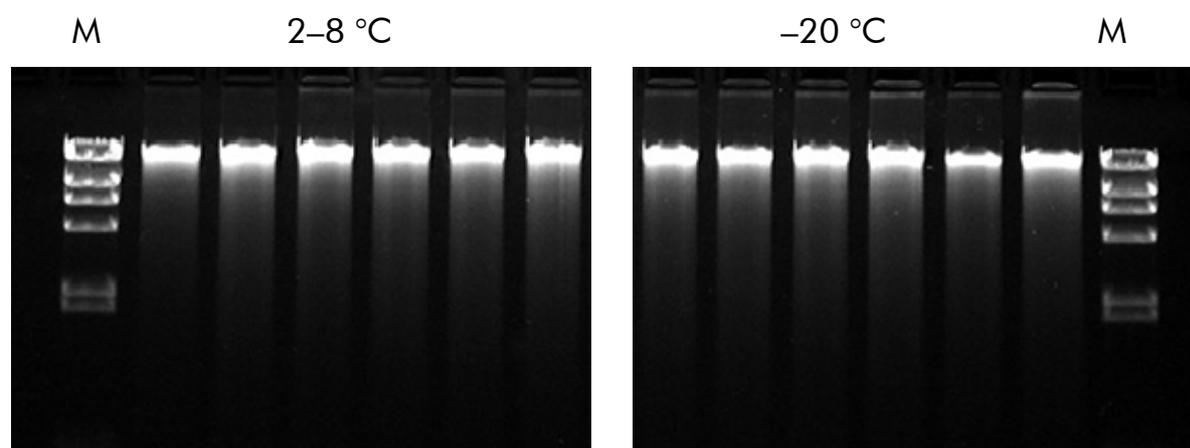


Figure 6. Stabilité à long terme de l'ADN isolé et purifié à l'aide de colonnes de centrifugation QIAamp Mini. L'ADN a été purifié avec le kit QIAamp DNA Blood Mini, élué dans 200 μ l de tampon AE et conservé 8 ans à une température comprise entre 2 et 8 °C ou à -20 °C. Les échantillons d'ADN ont été analysés sur un gel d'agarose coloré au bromure d'ethidium. **M** : marqueur.

Symboles

	Contient suffisamment de réactifs pour <N> préparations d'échantillons
	À utiliser avant
	Matériel médical destiné au diagnostic in vitro
	À l'arrivée
	Ouvrir à l'arrivée ; conserver les colonnes de centrifugation QIAamp Mini à une température comprise entre 2 et 8 °C
	Référence du catalogue
	Numéro de lot
	Référence du matériel
	Composants
	Contient
	Nombre
	Volume
	Limite de température
	Fabricant
	Noter la date du jour sur le flacon après avoir ajouté l'éthanol
	Ajouter

LYOPH	Lyophilisé
RCNS	Reconstituer dans
EtOH	Éthanol
GuHCl	Chlorhydrate de guanidine
SUBT	Subtilisine
➔	Mène à
	Lire le mode d'emploi
	Remarque importante

Références

QIAGEN tient à jour une vaste banque de données en ligne de publications scientifiques mentionnant les produits QIAGEN. Des critères de recherche permettent de trouver les articles à l'aide d'un mot-clé ou en spécifiant l'application, le domaine de recherche, le titre, etc.

Pour une bibliographie complète, visiter la Base de données bibliographique QIAGEN en ligne à l'adresse www.qiagen.com/RefDB/search.asp ou contacter les Services techniques de QIAGEN ou le distributeur local.

Coordonnées

Chez QIAGEN, nous sommes fiers de la qualité et de la disponibilité de notre support technique. Nos services techniques sont composés de scientifiques expérimentés bénéficiant d'un vaste savoir-faire pratique et théorique en ce qui concerne les technologies d'échantillons et d'analyses et l'utilisation des produits QIAGEN. N'hésitez pas à nous contacter si vous avez des questions ou rencontrez des difficultés concernant le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini ou les produits QIAGEN en général.

Les clients de QIAGEN constituent une importante source d'informations au sujet des utilisations avancées ou spécialisées de nos produits. Ces informations sont utiles à d'autres scientifiques, ainsi qu'aux chercheurs de QIAGEN. En conséquence, n'hésitez pas à prendre contact avec nous pour toute suggestion concernant les performances des produits ou de nouvelles applications et techniques.

Pour une assistance technique et plus d'informations, consulter notre Centre d'assistance technique sur le site www.qiagen.com/Support ou appeler l'un des Départements du service technique de QIAGEN ou des distributeurs locaux (voir la quatrième de couverture ou le site www.qiagen.com).

QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, D-40724 Hilden, Allemagne

Pour commander

Produit	Description	Référence
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Pour 50 préparations d'ADN : Colonnes de centrifugation QIAamp Mini, raccords pour vide, Protéinase QIAGEN, réactifs, tampons et tubes de prélèvement	61104
Accessoires		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	Collecteur de vide pour le traitement de 1 à 24 colonnes de centrifugation : Collecteur de vide QIAvac 24 Plus, prises Luer, raccords rapides	19413
Vacuum Pump*	Pompe à vide universelle	84020

Pour obtenir les dernières informations sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN respectif. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être sollicités auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

* À utiliser dans le cadre des protocoles d'aspiration sous vide.

Marques déposées : QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (Groupe QIAGEN) ; 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® (Groupe Roche) ; Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.). Les noms enregistrés, les marques déposées etc., utilisés dans ce document, même si non mentionnés comme tels ne peuvent être considérés comme non protégés juridiquement.

Accord de licence limitée pour le kit QIAamp DSP DNA Blood Mini

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur du produit accepte les conditions suivantes :

1. Le produit peut être utilisé seul conformément aux protocoles fournis, à ce manuel et avec les composants contenus dans le kit uniquement. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce kit avec tout autre composant non fourni dans ce kit, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, ce manuel et d'autres protocoles disponibles à l'adresse www.qiagen.com. Certains de ces protocoles supplémentaires ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour les utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été testés de manière approfondie ni optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne garantit pas non plus qu'ils n'enfreignent pas de droits de tiers.
2. Hormis les licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce kit et/ou son(s) utilisation(s) ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce kit et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur des kits consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les termes précédents. QIAGEN peut faire appliquer des interdictions de cet Accord de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de cet Accord de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au kit et/ou à ses composants.

Pour les termes de licence mis à jour, voir www.qiagen.com.

© 2012 QIAGEN, tous droits réservés.

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

