

QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit

Gebrauchsanweisung

IVD

Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik

Diese Gebrauchsanweisung gilt für:

**REF**

Version

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

50

61104

3



QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, 40724 Hilden, DEUTSCHLAND

Inhaltsverzeichnis

1. Verwendungszweck	4
2. Vorgesehene Anwender	4
3. Beschreibung und Prinzip	5
3.1. Verfahrensprinzip	5
3.2. Zusammenfassung und Erläuterung	11
4. Im Lieferumfang enthaltene Materialien	12
4.1. Kit-Inhalt	12
4.2. Bestandteile des Kits	13
5. Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	14
5.1. Zusätzliche Reagenzien	14
5.2. Verbrauchsmaterialien	14
5.3. Ausstattung	14
6. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen	16
6.1. Sicherheitshinweise	16
6.2. Vorsichtsmaßnahmen	18
7. Entsorgung	19
8. Lagerung und Handhabung	20
8.1. Lagerung und Handhabung der Reagenzien	20
8.2. Lagerung und Handhabung der Proben	21
9. Wichtige Hinweise vor Beginn	24
10. Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben unter Verwendung einer Mikrozentrifuge oder automatisierte Aufreinigung mit dem QIAcube Connect MDx	31
10.1. Vorbereitende Schritte	31
11. Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Knochenmarkaspirat-Proben mittels einer Mikrozentrifuge	36
11.1. Vorbereitende Schritte	36

12. Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben unter Verwendung eines Vakuumsystems 40

 12.1. Vorbereitende Schritte 40

13. Anwendungseinschränkungen 45

14. Leistungsmerkmale 46

15. Literaturangaben 47

16. Hilfe zur Fehlerbehebung 48

17. Symbole 53

18. Kontakt 56

19. Bestellinformationen 57

20. Revisionsverlauf des Dokuments 59

1. Verwendungszweck

Das QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit ist ein System, das die Silika-Membran-Technologie (QIAamp-Technologie) zur Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus biologischen Proben nutzt.

Das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ist für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.

2. Vorgesehene Anwender

Das Produkt darf nur von professionellen Anwendern wie z. B. Technikern und Ärzten, die in molekularbiologischen Techniken geschult sind, verwendet werden.

3. Beschreibung und Prinzip

Jedes Verfahren mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit umfasst 4 Schritte:

- Lysieren der Zellen in der Probe
- Binden der im Zelllysat enthaltenen genomischen DNA an die Membran einer QIAamp Mini Spin-Säule
- Waschen der Membran
- Eluieren der genomischen DNA von der Membran

Diese Gebrauchsanweisung enthält Protokolle für 2 alternative Verfahren mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit:

- Das Zentrifugationsverfahren, für das eine Zentrifuge erforderlich ist oder das auf dem QIAcube® Connect MDx (Abbildung 1) automatisiert werden kann, und
- Das Vakuumverfahren, für das eine Zentrifuge und ein Vakuumssystem erforderlich sind.

Weitere Einzelheiten entnehmen Sie bitte dem Flussdiagramm „Die QIAamp DSP DNA Blood Mini Spin- und Vakuum-Verfahren“ auf Seite 9.

3.1. Verfahrensprinzip

Lysieren der Proben

Die Proben werden bei stark denaturierenden Bedingungen und erhöhten Temperaturen lysiert. Die Lyse erfolgt in Gegenwart von QIAGEN® Protease (QP) und dem Lysepuffer (AL).

Binden der genomischen DNA an die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule

Zunächst wird den Lysaten Ethanol zugesetzt, um die Bindung der genomischen DNA an die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule zu optimieren. Anschließend wird jedes Lysat auf eine QIAamp Mini Spin-Säule aufgetragen und die genomische DNA wird auf der Silikamembran adsorbiert, während das Lysat durch Vakuumdruck oder Zentrifugalkraft die Säule passiert.

Entfernen von Restverunreinigungen

Während die genomische DNA an der Membran der QIAamp Mini Spin-Säule gebunden bleibt, werden die Verunreinigungen zunächst mit Waschpuffer 1 (AW1) und dann mit Waschpuffer 2 (AW2) effizient gewegewaschen.

Elution reiner genomischer DNA

Die genomische DNA wird mit 50–200 µl Elutionspuffer (AE) von der Membran der QIAamp Mini Spin-Säule eluiert. Das Elutionsvolumen hängt von der nachgeschalteten Anwendung ab und muss vom Anwender ermittelt und validiert werden.

Die eluierte DNA kann für verschiedene nachgelagerte Anwendungen verwendet werden, einschließlich verschiedener nachgelagerter Anwendungen der In-vitro-Diagnostik. Der Elutionspuffer (AE) sollte vor dem Auftragen auf die Säule auf Raumtemperatur (15–25 °C) äquilibriert werden.

Aufgrund des nach der Zentrifugation in der Membran der Spin-Säule zurückgehaltenen Elutionspuffers kann das gewonnene Eluatvolumen geringer sein als das auf die Säule aufgegebene Volumen an Elutionspuffer (AE). Außerdem hängt das Volumen des wiedergewonnenen Eluats von der Beschaffenheit der Probe ab.

Eluierte DNA wird in Elutionsröhrchen (ET) aufgefangen und kann für die weitere Verwendung gelagert werden.

Hinweis: Die Eluatstabilität hängt stark von verschiedenen Faktoren ab und ist von der jeweiligen nachgelagerten Anwendung abhängig. Sie wurde für das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit in Verbindung mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen bewertet. Es obliegt dem Anwender, die Gebrauchsanweisung zu der speziellen, in seinem Labor nachgelagerten Anwendung zu lesen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Lagerbedingungen festzulegen.

Ausbeute und Qualität der genomischen DNA

Die DNA-Ausbeute hängt vom Probentyp und der Qualität des Ausgangsmaterials ab. Durch eine Elution in kleineren Volumina wird zwar die endgültige DNA-Konzentration im Eluat erhöht, die DNA-Gesamtausbeute wird jedoch leicht reduziert. Das Elutionsvolumen sollte entsprechend den Anforderungen der nachgelagerten Anwendung gewählt werden.

Die Ausbeute und Qualität der isolierten genomischen DNA eignen sich für nachgelagerte Nachweisverfahren in der molekularen Diagnostik, wie z. B. PCR. Diagnostische Assays sollten gemäß den Anweisungen der Hersteller durchgeführt werden.

Automatisierte Aufreinigung auf dem QIAcube Connect MDx

Das QIAcube Connect MDx Gerät führt eine automatisierte Isolierung und Aufreinigung von Nukleinsäuren durch. Pro Einzellauf können bis zu 12 Proben verarbeitet werden.

Die Probenvorbereitung mit dem QIAcube Connect MDx erfolgt in denselben Schritten wie das manuelle Verfahren (d. h. Lyse, Bindung, Waschen und Elution), sodass Sie das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit weiterhin zur Aufreinigung hochwertiger DNA verwenden können.

Bei der Automatisierung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kits auf dem QIAcube Connect MDx kann das Gerät aufgrund von Totvolumina, Verdampfung und zusätzlichem Reagenzienverbrauch durch automatisiertes Pipettieren möglicherweise weniger als 50 Proben verarbeiten. QIAGEN garantiert nur bei manueller Verwendung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kits 50 Probenvorbereitungen.

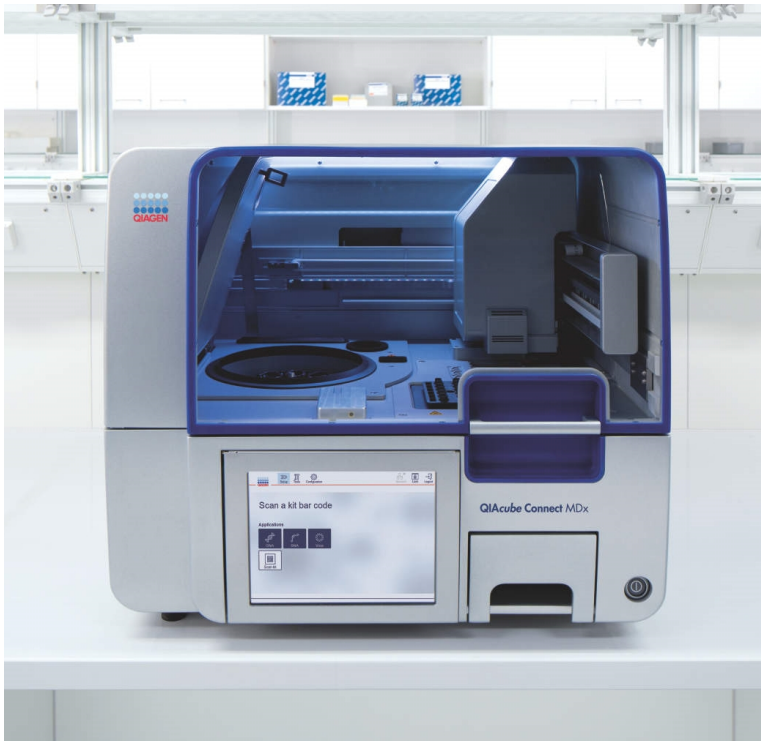


Abbildung 1. QIAcube Connect MDx

Die QIAamp DSP DNA Blood Mini Spin- und Vakuum-Verfahren

Lesen Sie die Protokolle ("Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Knochenmarkaspirat-Proben mittels einer Mikrozentrifuge" auf Seite 36 und "Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben unter Verwendung eines Vakuumsystems" auf Seite 40) vor Beginn sorgfältig durch.

Geben Sie 20 µl QP, 200 µl Probe und 200 µl AL in LT.

15 s vortexen.

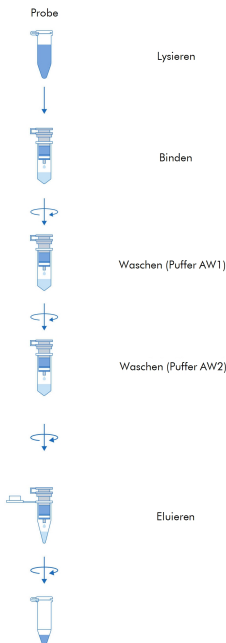
10 min bei 56 °C inkubieren.

Geben Sie 200 µl Ethanol zu.

15 s vortexen.

Lysat auf eine QIAamp Mini Spin-Säule aufbringen.

QIAamp Spin-Verfahren



QIAamp Vakuum-Verfahren



Zentrifugationsverfahren

1 min lang bei 6000 × g zentrifugieren.

Die QIAamp Mini Spin-Säule in ein neues WT einsetzen, 500 µl AW1 hinzugeben und 1 min bei 6000 × g zentrifugieren.

QIAamp Mini Spin-Säule in ein neues WT einsetzen, 500 µl AW2 zugeben und 1 min bei voller Drehzahl (ca. 20 000 × g oder 14 000 U/min) zentrifugieren.

Vakuumverfahren

Vakuum anlegen.

750 µl AW1 zugeben und Vakuum anlegen.

750 µl AW2 zugeben und Vakuum anlegen.

QIAamp Mini Spin-Säule in WT einsetzen.

3 min bei voller Drehzahl (ca. 20 000 × g oder 14 000 U/min) zentrifugieren.

QIAamp Mini Spin-Säule in ET einsetzen.

50–200 µl Puffer AE zugeben und 1 min inkubieren.

1 min lang bei 6000 × g zentrifugieren.

3.2. Zusammenfassung und Erläuterung

Das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit nutzt bewährte Technologien für die schnelle und einfache Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus 200 µl Vollblut.

Die Verfahren des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kits sind für die gleichzeitige Verarbeitung mehrerer Proben ausgelegt und liefern gebrauchsfertige, aufgereinigte DNA. Die Verfahren eignen sich für die Anwendung mit frischem oder gefrorenem Vollblut und Blut, das mit Citrat oder EDTA behandelt wurde.

Das manuelle Extraktionsprotokoll unter Verwendung einer Mikrozentrifuge kann in Verbindung mit dem *ipsogen*® IDH1 RGQ PCR Kit zur Isolierung genomischer DNA aus Knochenmarkaspirat-Proben verwendet werden.

Eine vorangehende Auftrennung der Leukozyten ist nicht erforderlich. Die Verfahren erfordern weder eine Phenol-Chloroform-Extraktion noch eine Alkoholfällung und erfordern nur minimale Interaktion durch den Anwender, was eine sichere Handhabung potenziell infektiöser Proben ermöglicht. Die Verfahren sind darauf ausgelegt, Kreuzkontaminationen zwischen Proben zu minimieren. Die aufgereinigte DNA ist gebrauchsfertig für den Einsatz bei einer PCR oder anderen Anwendungen oder kann alternativ für die spätere Verwendung gelagert werden. Es obliegt dem Anwender, die Gebrauchsanweisung zu der speziellen, in seinem Labor nachgelagerten Anwendung zu lesen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Lagerbedingungen festzulegen.

Die QIAamp DSP Spin- und Vakuum-Verfahren eignen sich für die gleichzeitige Verarbeitung mehrerer Proben. Für Blutproben können einige der QIAamp Spin-Verfahren für eine verbesserte Standardisierung und Benutzerfreundlichkeit auf dem QIAcube Connect MDx vollständig automatisiert werden (siehe Abschnitt 10. „Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben unter Verwendung einer Mikrozentrifuge oder automatisierte Aufreinigung mit dem QIAcube Connect MDx“).

Bei dem Vakuum-Verfahren werden für das Protokoll ein Vakuumverteiler (z. B. der QIAvac 24 Plus mit dem QIAvac Connecting System) sowie eine Vakuumpumpe benötigt, die ein Vakuum von ca. 800–900 mbar erzeugen kann (z. B. die QIAGEN Vacuum Pump). Für die einfache Überwachung des Vakuumdrucks und einen leichten Vakuumbau sollte der Vacuum Regulator (Teil des QIAvac Connecting System) verwendet werden.

4. Im Lieferumfang enthaltene Materialien

4.1. Kit-Inhalt

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit Katalog-Nr. Anzahl Präparationen			61104 50*
	Bezeichnung	Symbole	Menge
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (Spin-Säulen mit Waschröhrchen) (WT) (2 ml)	COL	50
ET	Elution Tubes (Elutionsröhrchen) (1,5 ml)	ELU TUBE	50
VC	VacConnectors (Verbindungsstücke)	VAC CON	50
LT	Lysis Tubes (Lyseröhrchen) (1,5 ml)	LYS TUBE	50
WT	Wash Tubes (Waschröhrchen) (2 ml)	WASH TUBE	3 x 50
AL [†]	Lysis Buffer (Lysepuffer)	LYS BUF	12 ml
AW1 ^{‡§}	Wash Buffer 1 (Waschpuffer 1) (Konzentrat)	WASH BUF 1 CONC	19 ml
AW2 ^{‡§}	Wash Buffer 2 (Waschpuffer 2) (Konzentrat)	WASH BUF 2 CONC	13 ml
AE [‡]	Elution Buffer (Elutionspuffer)	ELU BUF	25 ml
PS [‡]	Protease Solvent (Proteaselösemittel)	QPROT SOLV	2 ml
QP [§]	QIAGEN Protease	QPROT	1 Fläschchen

* Bei der Automatisierung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kits auf dem QIAcube Connect MDx Instrument kann das Gerät aufgrund von Totvolumina, Verdampfung und zusätzlichem Reagenzienverbrauch durch automatisiertes Pipettieren möglicherweise weniger als 50 Proben verarbeiten. QIAGEN garantiert bei manueller Verwendung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kits nur 50 Probenvorbereitungen.

[†] Enthält Guanidinhydrochlorid. Nicht mit bleichehaltigen Desinfektionsmitteln kompatibel. Weitere Informationen finden Sie in Abschnitt 6. „Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen“

[‡] Enthält Natriumazid als Konservierungsmittel.

[§] Siehe Abschnitt 9 für das "Vorbereiten der Reagenzien und Puffer" auf Seite 25.

4.2. Bestandteile des Kits

Die Hauptbestandteile des Kits, die aktive Inhaltsstoffe enthalten, sind im Folgenden beschrieben.

Tabelle 1. Aktive Inhaltsstoffe in den enthaltenen Reagenzien

Reagenz	Wirkstoffe	Konzentration (w/w) [%]
QIAGEN Protease	Subtilisin	≥ 0 to ≤ 100
AL	Guanidinhydrochlorid	≥ 30 bis < 50
	Maleinsäure	$\geq 0,1$ bis < 1
AW1	Guanidinhydrochlorid	≥ 50 bis < 70

Kontrollen und Kalibratoren

Um das Risiko einer negativen Auswirkung auf die Ergebnisse der diagnostischen Tests zu minimieren, sollten in nachgelagerten Anwendungen geeignete Kontrollen verwendet werden.

5. Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Handschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen entnehmen Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern, die vom Hersteller des jeweiligen Produkts bereitgestellt werden.

5.1. Zusätzliche Reagenzien

- Ethanol (96–100 %)*

5.2. Verbrauchsmaterialien

- Pipettenspitzen (zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen empfehlen wir dringend Pipettenspitzen mit Aerosolbarrieren)

5.3. Ausstattung

Stellen Sie vor dem Gebrauch sicher, dass die Geräte gemäß den Empfehlungen des Herstellers geprüft und kalibriert wurden.

- Pipetten (einstellbar)
- Heizblock für die Lyse von Proben bei 56 °C (für 1,5-ml-Mikroteströhrchen)
- Mikrozentrifuge
- Messzylinder (50 ml)
- Vortexer

*Es darf kein denaturierter Alkohol verwendet werden, der andere Stoffe wie z. B. Methanol oder Methylethylketon enthält.

Nur für das Vakuum-Verfahren

- QIAvac 24 Plus vacuum system (Vakuumsystem) (Kat. -Nr. 19413) oder gleichwertig
- Optional: VacValves (Kat. -Nr. 19408)
- QIAvac Connecting System (Verbindungssystem) (Kat. -Nr. 19419) oder gleichwertig
- Vacuum Pump (Vakuumpumpe) (Kat. -Nr. 84020 oder 9003250) oder eine gleichwertige Pumpe, die ein Vakuum von –800 bis –900 mbar erzeugen kann

Nur für das automatisierte Verfahren

- QIAcube Connect MDx Instrument (Kat. -Nr. 9003070)
- Rotor Adapter (Kat. -Nr. 990394)
- Rotor Adapter Holder (Kat. -Nr. 990392)
- Sample Tubes CB (Kat. -Nr. 990382; Proben-Eingangsröhrchen)
- Shaker Rack Plugs (Schüttelblock-Verschlüsse) (Kat. -Nr. 9017854)
- Reagent Bottles (Reagenzienflaschen), 30 ml (Kat. -Nr. 990393)
- Filter-Tips (Filterspitzen), 1000 µl (Kat. -Nr. 990352)
- Filter-Tips (Filterspitzen), 200 µl (Kat. -Nr. 990332)
- SafeSeal Tube (SafeSeal-Reaktionsgefäß), 1,5 ml (Sarstedt®, Kat. -Nr. 72.706)

6. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

Bitte beachten Sie, dass Sie bei der Meldung schwerwiegender Vorkommnisse im Zusammenhang mit dem Gerät an den Hersteller und/oder dessen autorisierten Vertreter und die Aufsichtsbehörde, die für den Benutzer und/oder Patienten zuständig ist, möglicherweise Ihre lokalen Vorschriften beachten müssen.

Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik.

Lesen Sie alle Anweisungen vor Verwendung des Kits genau durch.

6.1. Sicherheitshinweise

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Handschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen sind den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (SDB) zu entnehmen. Diese sind online in einem praktischen und kompakten PDF-Format unter www.qiagen.com/safety verfügbar. Dort können Sie das SDB für jedes QIAGEN-Kit und jede Kit-Komponente finden, einsehen und ausdrucken.

WARNUNG



Verletzungsgefahr

Es dürfen KEINE Bleichlösungen oder sauren Lösungen direkt zum Abfall der Probenvorbereitung gegeben werden.

- Lysepuffer (AL) und Waschpuffer 1 (AW1) enthalten Guanidinhydrochlorid, das in Kombination mit Bleiche hochreaktive Verbindungen bilden kann. Wenn eine Flüssigkeit mit diesen Puffern verschüttet wird, reinigen Sie den Bereich mit einem geeigneten Laborreinigungsmittel und Wasser. Wenn die verschüttete Flüssigkeit potenziell infektiöse Stoffe enthält, reinigen Sie die Fläche zuerst mit Laborreinigungsmittel und Wasser und danach mit 1 % (v/v) Natriumhypochlorit.
- Bei Beschädigung bzw. Auslaufen müssen die Pufferflaschen entsorgt werden. Dabei müssen Sie Handschuhe und eine Schutzbrille tragen, um eine Verletzung bei Ihnen und anderen Personen zu vermeiden.

- Proben sind potenziell infektiös und müssen gemäß den lokalen Sicherheitsbestimmungen behandelt und entsorgt werden.
- QIAGEN hat den bei den Verfahren mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit anfallenden Flüssigabfall nicht auf infektiöse Rückstände untersucht. Daher müssen bei der Arbeit mit diesem Produkt die allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen im Umgang mit potenziell infektiösem humanem Ausgangsmaterial (Handschuhe, Laborkittel und Augenschutz) getroffen werden. Flüssigabfall muss als infektiös betrachtet und gemäß den lokalen Sicherheitsbestimmungen behandelt und entsorgt werden.

Notfallinformationen

CHEMTREC

USA und Kanada: 1 800 424 9300

Außerhalb der USA und Kanadas: +1 703 527 3887

6.2. Vorsichtsmaßnahmen

Die folgenden Risiko- und Sicherheitssätze gelten für die Komponenten des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kits.

Puffer AL



Enthält: Guanidinhydrochlorid und Maleinsäure. Warnung! Kann bei Verschlucken oder Einatmen gesundheitsschädlich sein. Verursacht Hautreizungen. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Verursacht schwere Augenreizung. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei Unwohlsein GIFTNOTRUFZENTRALE oder Arzt anrufen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter einer zugelassenen Entsorgungsanlage zuführen.

Puffer AW1



Enthält: Guanidinhydrochlorid. Warnung! Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter einer zugelassenen Entsorgungsanlage zuführen.

QIAGEN Protease



Enthält: Subtilisin. Gefahr! Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenschäden. Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. Kann die Atemwege reizen. Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Atemschutz tragen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. BEI Exposition oder falls betroffen: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Die betroffene Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.

7. Entsorgung

Der Abfall besteht aus Proben und Reagenzien. In diesem Abfall können toxische oder infektiöse Materialien enthalten sein, die sachgerecht entsorgt werden müssen. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die geltenden Sicherheitsbestimmungen.

8. Lagerung und Handhabung

8.1. Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Die auf der Verpackung aufgedruckten Verfallsdaten und Lagerungsbedingungen sind zu beachten. Abgelaufene oder falsch gelagerte Komponenten dürfen nicht verwendet werden.

Das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit wird bei Umgebungstemperatur geliefert. Nach Erhalt sollten die QIAamp Mini Spin-Säulen bei 2–8 °C in ihrer Originalverpackung gelagert werden. Um ein Vermischen von Kit-Komponenten aus unterschiedlichen Kits zu vermeiden, kennzeichnen Sie die QIAamp Mini Spin-Säulen bitte mit der jeweiligen Kit-Chargennummer. Alle anderen Kit-Komponenten (Puffer, lyophilisierte QIAGEN Protease (QP) und Kunststoffzubehör) sollten bei Raumtemperatur (15–25 °C) gelagert werden.

Bei korrekter Lagerung ist das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit bis zu dem auf der Außenverpackung aufgedruckten Verfallsdatum haltbar. Unter diesen Bedingungen sind die Komponenten in ungeöffnetem Zustand 2 Jahre lang stabil, ohne Einbußen bei Leistung und Qualität.

Das Produkt nicht verwenden, wenn es außerhalb der Spezifikationen gelagert wurde, die Verpackung beschädigt wurde oder andere Anzeichen eines Verderbs oder einer Fehlfunktion erkennbar sind.

Stabilität nach dem Öffnen

Rekonstituierte QIAGEN Protease (QP) ist bei 2–8 °C bis zu 1 Jahr oder bis zum Verfallsdatum des Kits haltbar, je nachdem, was zuerst eintritt. Die QIAGEN Protease (QP)-Stammlösung sollte nicht über längere Zeiträume bei Raumtemperatur aufbewahrt werden.

Rekonstituierter Waschpuffer 1 (AW1) und rekonstituierter Waschpuffer 2 (AW2) können bei Raumtemperatur bis zu 1 Jahr oder bis zum Verfallsdatum des Kits gelagert werden, je nachdem, welcher Zeitraum kürzer ist.

Befolgen Sie zur Puffervorbereitung für das automatisierte Verfahren die Anweisungen im *QIAcube Connect MDx Benutzerhandbuch* (verfügbar unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com).

8.2. Lagerung und Handhabung der Proben

Das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ist zur Verwendung mit den in Abschnitt 13 aufgeführten Probenarten bestimmt. „Anwendungseinschränkungen“. Alle Proben sind als potenziell gefährlich zu behandeln. Die Probenstabilität und die Leistung der Nukleinsäureextraktion hängen in hohem Maße von verschiedenen Faktoren ab, wie z. B. dem Probenentnahmesystem und der Entnahmemethode, der Lagertemperatur, den Einfrier-Auftau-Zyklen sowie den Transportbedingungen, und hängen zudem von der jeweiligen nachgelagerten Anwendung ab. Dies wurde für das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit in Verbindung mit beispielhaften Methoden und Systemen der Probenentnahme sowie nachgelagerten Anwendungen belegt. Es obliegt dem Anwender, die Gebrauchsanweisung zu dem jeweiligen Gerät zur Probenentnahme und der nachgelagerten Anwendung, die in seinem Labor genutzt werden, zu lesen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um die richtigen Bedingungen festzulegen.

8.2.1. Probenentnahme

Allgemeine Empfehlungen zu Entnahme, Transport und Lagerung finden Sie in der genehmigten CLSI-Richtlinie MM13-A, *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods* (1). Des Weiteren sind bei Probenvorbereitung, -lagerung und -transport und der allgemeinen Handhabung die Anweisungen des Herstellers für die gewählte Probenentnahmevorrichtung einzuhalten.

Unabhängig von den Anweisungen des Herstellers des Blutentnehmeröhrchens ist die Norm ISO 20186-2:2019 (E) für die Extraktion genomischer DNA aus venösem Vollblut zu berücksichtigen.

Es können mit EDTA oder ACD (Citrat) behandelte Vollblutproben sowohl frisch als auch gefroren verwendet werden.

Hinweis : Informationen zu Knochenmarkaspirat- Proben finden Sie in der *Gebrauchsanweisung (Handbuch) für das ipsogen IDH1 RGQ PCR Kit.*

8.2.2. Handhabung der Proben

Die Ausbeute und Qualität der aufgereinigten DNA hängen von den Bedingungen bei der Lagerung der Probe ab. Einfrieren und Auftauen von Proben kann Auswirkungen auf die DNA-Ausbeute und -Qualität haben. Gefrorene Blutproben sollten in einem 37 °C warmen Wasserbad unter leichtem Schwenken aufgetaut werden, um eine gründliche Durchmischung zu gewährleisten, und anschließend vor Beginn des Verfahrens auf Raumtemperatur gebracht werden. Wenn frische Blutproben in Primärröhrchen verwendet werden, mischen Sie die Blutproben (z. B. durch mehrmaliges Umdrehen der Röhrchen) vor der Überführung von Proben gründlich. Um eine zuverlässige Überführung der Proben zu gewährleisten, vermeiden Sie Schaumbildung in den Probenröhrchen. Vermeiden Sie möglichst die Bildung von Blutgerinnseln und überführen Sie die Probe nur, wenn keine Gerinnsel vorhanden sind.

Beim Auftauen der Proben entstandene Kryopräzipitate verstopfen die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule oder können das automatisierte Verfahren auf dem QIAcube Connect MDx beeinträchtigen. Wenn Kryopräzipitate sichtbar sind, aspirieren Sie diese nicht.

Störsubstanzen in Proben

Gemäß ISO 20186-2:2019(E) kann Heparin aus Blutentnahmeröhrchen die Reinheit der isolierten Nukleinsäuren beeinträchtigen, und eine mögliche Verschleppung in die Eluate könnte bei einigen nachgeschalteten Anwendungen zu Hemmungen führen. Wir empfehlen daher die Verwendung von Blutproben, die mit EDTA oder Citrat als Antikoagulans behandelt wurden.

9. Wichtige Hinweise vor Beginn

- Überprüfen Sie alle Kit-Komponenten nach der Lieferung auf Beschädigungen. Falls die Blisterpackungen oder die Pufferflaschen beschädigt sind, wenden Sie sich an den technischen Support von QIAGEN oder Ihren lokalen Vertriebshändler. Im Falle des Verschüttens von Flüssigkeiten siehe Abschnitt 6.1. „Sicherheitshinweise“. Verwenden Sie keine beschädigten Kit-Komponenten, da dies zu einer Beeinträchtigung der Leistung des Kits, zu Verletzungen des Anwenders oder Geräteschäden führen kann.
- Wechseln Sie zwischen den verschiedenen Pipettierschritten stets die Pipettenspitzen. Zur Minimierung von Kreuzkontaminationen empfehlen wir, Pipettenspitzen mit Aerosolbarriere zu verwenden.
- Tragen Sie während des gesamten Verfahrens Einweghandschuhe und prüfen Sie diese regelmäßig auf Verschmutzung mit Probenmaterial. Entsorgen Sie die Handschuhe, falls sie kontaminiert wurden.
- Um Kreuzkontamination zu minimieren, darf immer nur ein Röhrchen geöffnet werden.
- Zentrifugieren Sie die Mikrozentrifugenröhrchen nach jedem Vortexen in Impulsen, um Tropfen von der Unterseite der Deckel zu entfernen. Achten Sie darauf, dass während des gesamten Vorgangs die Rückverfolgbarkeit der Proben gewährleistet ist.
- Alle Zentrifugationsschritte werden bei Raumtemperatur durchgeführt.
- Achten Sie darauf, dass während des gesamten Vorgangs die Rückverfolgbarkeit der Proben gewährleistet ist.
- Bei QIAGEN wird jede einzelne Kit-Charge im Rahmen der Qualitätskontrolle vor Freigabe einem Funktionstest unterzogen. Mischen Sie daher keine Reagenzien aus verschiedenen Kit-Chargen und kombinieren Sie keine einzelnen Reagenzien aus verschiedenen Reagenzienchargen.
- Vermeiden Sie eine Verunreinigung der Kit-Reagenzien mit Mikroorganismen.
- Wir empfehlen, die Arbeiten an einer Sicherheitswerkbank durchzuführen, bis die Proben lysiert sind, um das mit potenziell infektiösem Material verbundene Infektionsrisiko zu

minimieren.

- Befolgen Sie für die Automatisierung die Anweisungen auf der Benutzeroberfläche (QIAcube Connect MDx) und beachten Sie das *QIAcube Connect MDx Benutzerhandbuch*, www.qiagen.com/HB-2794
- Allgemeine Informationen zum QIAvac 24 Plus System finden Sie im *QIAvac 24 Plus Handbuch*, www.qiagen.com/HB-0496
- Das Kit darf nur von Personen verwendet werden, die in der Laborpraxis für die In-vitro-Diagnostik geschult sind.

Vorbereiten der Reagenzien und Puffer

- **Vorbereiten der QIAGEN Protease**

Geben Sie 1,2 ml Protease-Lösungsmittel (PS) in das Fläschchen mit der lyophilisierten QIAGEN Protease (QP) und mischen Sie vorsichtig. Mischen Sie das Fläschchen mehrmals durch Umschwenken, um Schaumbildung zu vermeiden. Stellen Sie sicher, dass die QIAGEN Protease (QP) vollständig gelöst ist.

Die QIAGEN Protease (QP) darf nicht direkt in den Lysepuffer (AL) gegeben werden.

Hinweis: Rekonstituierte QIAGEN Protease (QP) ist bei Lagerung bei bis zu 1 Jahr stabil. 2–8 °C oder bis zum Verfallsdatum des Kits, je nachdem, welcher Zeitpunkt früher liegt. Eine Aufbewahrung der QIAGEN Protease (QP) Stammlösung bei Raumtemperatur über längere Zeiträume ist zu vermeiden.

- **Vorbereiten von Waschpuffer 1 ^{*}**

Geben Sie 25 ml Ethanol (96–100 %) [†] in die Flasche mit 19 ml Waschpuffer 1 (AW1)-Konzentrat, wie auf der Flasche beschrieben. Geben Sie auf dem Etikett an, dass Ethanol hinzugefügt wurde. Lagern Sie den rekonstituierten Waschpuffer 1 (AW1) bei Raumtemperatur.

Mischen Sie vor Beginn des Verfahrens stets den rekonstituierten Waschpuffer 1 (AW1), indem Sie die Flasche mehrmals über Kopf drehen.

- **Vorbereitung von Waschpuffer 2 [†]**

Geben Sie (wie auf der Flasche beschrieben) 30 ml Ethanol (96–100 %) [‡] in die Flasche mit 13 ml Waschpuffer 2 (AW2)-Konzentrat. Geben Sie auf dem Etikett an, dass Ethanol hinzugefügt wurde. Lagern Sie den rekonstituierten Waschpuffer 2 (AW2) bei Raumtemperatur.

Mischen Sie vor Beginn des Verfahrens stets den rekonstituierten Waschpuffer 2 (AW2), indem Sie die Flasche mehrmals über Kopf drehen.

^{*}Enthält ein Guanidinsalz. Ergreifen Sie bei der Handhabung geeignete Laborsicherheitsmaßnahmen und tragen Sie Schutzhandschuhe. Nicht mit bleichehaltigen Desinfektionsmitteln kompatibel. Siehe Abschnitt 6.1 „Sicherheitshinweise“.

[†]Es darf kein denaturierter Alkohol verwendet werden, der andere Stoffe wie z. B. Methanol oder Methylethylketon enthält.

[‡]Enthält Natriumazid als Konservierungsmittel.

[‡]Es darf kein denaturierter Alkohol verwendet werden, der andere Stoffe wie z. B. Methanol oder Methylethylketon enthält.

- **Vorbereiten des Elutionspuffers**

Im Lieferumfang des Kits ist eine Flasche Elutionspuffer (AE) enthalten. Um eine Kontamination des Elutionspuffers (AE) zu vermeiden, empfehlen wir dringend, beim Pipettieren von Elutionspuffer (AE) aus der Flasche Pipettenspitzen mit Aerosolfiltern zu verwenden und die Flasche sofort danach wieder zu verschließen.

Der Elutionspuffer (AE) enthält das Konservierungsmittel Natriumazid, das eine Extinktion bei 260 nm aufweist. Stellen Sie daher bei der Quantifizierung von DNA im Eluat durch Messung der Extinktion bei 260 nm, bei der Bestimmung der DNA-Reinheit im Eluat durch Messung der Extinktion bei 260 nm und 280 nm oder beim Scannen der Extinktion im Bereich zwischen 220 nm und 350 nm sicher, dass der Leerwert die gleiche Konzentration an Natriumazid enthält wie das Eluat. Wenn Sie beispielsweise das Eluat für Extinktionsmessungen vorbereiten, indem Sie 50 µl Eluat mit 100 µl Wasser verdünnen, sollten Sie den Leerwert vorbereiten, indem Sie 50 µl Elutionspuffer (AE) mit 100 µl Wasser verdünnen. Verwenden Sie für die Verdünnungen frisches, destilliertes Wasser.

Handhabung von QIAamp Mini Spin-Säulen

Wegen der Sensitivität der Nukleinsäure-Amplifikationstechnik sind bei der Handhabung der QIAamp Mini Spin- Säulen die folgenden Vorsichtsmaßnahmen nötig, um Kreuzkontaminationen zwischen den Probenvorbereitungen zu vermeiden:

- Gehen Sie beim Auftragen der Probe bzw. Lösung auf die QIAamp Mini Spin-Säule behutsam vor. Achten Sie beim Pipettieren der Probe in die QIAamp Mini Spin-Säule darauf, den Rand der Säule nicht zu benetzen.
- Wechseln Sie zwischen allen Pipettierschritten stets die Pipettenspitzen. Wir empfehlen die Verwendung von Pipettenspitzen mit Aerosolbarrieren.
- Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.
- Öffnen Sie stets nur eine QIAamp Mini Spin-Säule und vermeiden Sie Aerosolbildung.

Einrichtung des QIAvac 24 Plus Vakuumsystems

Allgemeine Informationen zum QIAvac 24 Plus-System finden Sie im entsprechenden Handbuch.

Stellen Sie sicher, dass Sie die QIAamp Mini Spin-Säule, den VacConnector (VC) und das VacValve korrekt einrichten (siehe Abbildung 2).

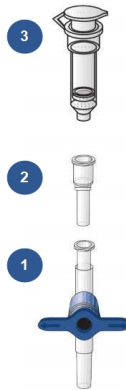


Abbildung 2. Zusammenbau der Komponenten des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kits für die Vakuumverarbeitung von Proben.

(1) VacValve, (2) VacConnector (VC) und (3) QIAamp Mini Spin-Säule.

Bei Anwendung des Vakuumverfahrens mit dem QIAvac 24 Plus Vakuumsystem empfehlen wir, die Lyseröhrchen (LT), Elutionsröhrchen (ET) und QIAamp Mini Spin-Säulen gemäß dem Schema in Abbildung 3 zu beschriften, um eine Verwechslung von Proben zu vermeiden. Diese Abbildung kann ausgedruckt und mit den Probenbezeichnungen beschriftet werden. Wir empfehlen die Verwendung einer vergleichbaren Vorlage bei Einsatz anderer Vakuumsysteme oder Anwendung des Spin-Verfahrens.

Datum: _____

Bediener: _____

Lauf-ID: _____

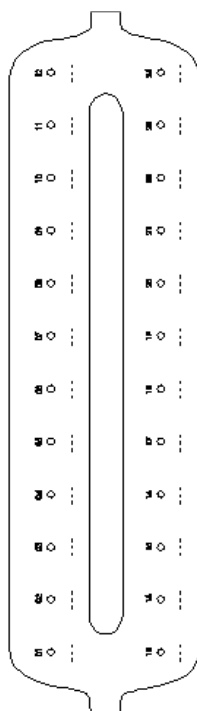


Abbildung 3. Beschriftungsschema für Lyseröhrchen (LT), Elutionsröhrchen (ET) und QIAamp Mini Spin-Säulen zur Verwendung auf dem QIAvac 24 Plus Vakuumsystem.

10. Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben unter Verwendung einer Mikrozentrifuge oder automatisierte Aufreinigung mit dem QIAcube Connect MDx

Zur Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus mit EDTA oder Citrat versetzten 200-µl-Vollblutproben unter Verwendung einer Mikrozentrifuge oder automatisiert mit dem QIAcube Connect MDx.

Wichtige Hinweise vor Beginn

- In den folgenden Verfahrensanweisungen wird die Verarbeitung einer einzelnen Blutprobe beschrieben. Es können jedoch mehrere Proben gleichzeitig verarbeitet werden. Die genaue Anzahl ist abhängig von der Kapazität der verwendeten Mikrozentrifuge.
- Auf dem QIAcube Connect MDx Gerät kann die automatisierte Verarbeitung von 2–10 oder 12 Proben durchgeführt werden.
- Befolgen Sie für die Automatisierung die Anweisungen auf der Benutzeroberfläche (QIAcube Connect MDx) und beachten Sie das *QIAcube Connect MDx Benutzerhandbuch*, www.qiagen.com/HB-2794

10.1. Vorbereitende Schritte

- Äquilibrieren Sie die Blutproben auf Raumtemperatur und stellen Sie sicher, dass sie gut gemischt sind.
- Achten Sie darauf, dass alle Reagenzien und die QIAamp Mini Spin-Säulen (in geschlossenen Blisterpackungen) auf Raumtemperatur äquilibriert werden.

- Stellen Sie einen Heizblock für Schritt 4 auf 56 °C ein (erforderlich für das manuelle Verfahren und das automatisierte Verfahren mit manueller Offboard-Lyse).
- Vergewissern Sie sich, dass Waschpuffer 1 (AW1), Waschpuffer 2 (AW2) und QIAGEN Protease (QP) gemäß den Anweisungen in „Vorbereiten der Reagenzien und Puffer“ in Abschnitt 9. „Wichtige Hinweise vor Beginn“ vorbereitet wurden.
- Wenn sich im Lysepuffer (AL) Niederschlag gebildet hat, lösen Sie diesen durch Inkubation bei 56 °C auf.
- Bei QIAGEN wird jede einzelne Kit-Charge im Rahmen der Qualitätskontrolle zur Freigabe einem Funktionstest unterzogen. Mischen Sie daher keine Reagenzien aus verschiedenen Kit-Chargen und kombinieren Sie keine einzelnen Reagenzien aus verschiedenen Reagenzienchargen.

Verfahren

- Für das manuelle Verfahren mit einer Mikrozentrifuge führen Sie die Schritte 1–17 aus.
 - Dieses Verfahren kann in 3 verschiedenen Versionen automatisiert werden:
 - Elutionsvolumen: 100 µl, vollständig automatisiert (Automatisierung ab Schritt 1)
 - Elutionsvolumen: 200 µl, vollständig automatisiert (Automatisierung ab Schritt 1)
 - Manuelle Lyse: teilweise automatisiert mit manueller Off-Board-Lyse und Elutionsvolumina von 100–200 µl in Schritten von 10 µl (Automatisierung nach Schritt 5)
1. Pipettieren Sie 20 µl QIAGEN Protease (QP) in ein Lyseröhrchen (LT).
 - ① Überprüfen Sie vor dem Gebrauch das Verfallsdatum der rekonstituierten Protease.
 2. 200 µl Blutprobe in das Lyseröhrchen (LT) geben.
 3. Geben Sie 200 µl Lysepuffer (AL) in das Lyseröhrchen (LT). Schließen Sie den Deckel und mischen Sie den Inhalt des Röhrchens ≥ 15 s lang durch Vortexen in Impulsen.
 - ① Zur Gewährleistung einer effizienten Lyse müssen Probe und Lysepuffer (AL) gründlich vermischt werden, sodass eine homogene Lösung entsteht.

ⓘ Da der Lysepuffer (AL) eine hohe Viskosität aufweist, achten Sie darauf, dass das korrekte Volumen von Lysepuffer (AL) zugegeben wird, indem Sie genau pipettieren.

ⓘ Die QIAGEN Protease (QP) darf nicht direkt in den Lysepuffer (AL) gegeben werden.

4. Inkubieren Sie 10 min lang bei 56 °C in einem Heizblock.
5. Zentrifugieren Sie das Lyseröhrchen (LT) ≥ 5 s lang bei voller Drehzahl, um Tropfen aus dem Inneren des Deckels zu entfernen.

Hinweis: Falls die manuelle Lyse (Schritte 1–5) extern (off-board) durchgeführt wurde, können die folgenden Schritte (Schritte 6–17) auf dem QIAcube Connect MDx unter Verwendung des Protokolls für die manuelle Lyse automatisiert werden.

6. Geben Sie 200 µl Ethanol (96–100 %) in das Lyseröhrchen (LT). Schließen Sie den Deckel und mischen Sie gründlich durch ≥ 15 s langes Vortexen in Impulsen.
7. Zentrifugieren Sie das Lyseröhrchen (LT) ≥ 5 s lang bei voller Drehzahl, um Tropfen aus dem Inneren des Deckels zu entfernen.
8. Geben Sie vorsichtig das gesamte Lysat aus Schritt 7 in die QIAamp Mini Spin-Säule, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.

Hinweis: Wenn Sie mehrere Proben verarbeiten, öffnen Sie immer nur ein Lyseröhrchen (LT) gleichzeitig und achten Sie darauf, die Bildung von Aerosolen zu vermeiden.

9. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und zentrifugieren Sie 1 min lang bei ca. 6 000 x g. Stellen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (Wash Tube, WT) und werfen Sie das Röhrchen mit dem Filtrat.
 - a. Falls das Lysat nach der Zentrifugation bei 6 000 x g (8 000 U/min) die Membran nicht vollständig passiert hat, zentrifugieren Sie erneut 1 min lang bei voller Drehzahl (bis zu 20 800 x g).
 - b. Wenn das Lysat während der Zentrifugation die Membran noch nicht passiert hat, entsorgen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule und wiederholen Sie das Verfahren mit einer neuen Probe.

10. Öffnen Sie vorsichtig die QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie 500 µl Waschpuffer 1 (AW1) hinzu, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.
11. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und zentrifugieren Sie 1 min lang bei ca. 6 000 x g. Stellen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (Wash Tube, WT) und werfen Sie das Röhrchen mit dem Filtrat.
12. Öffnen Sie vorsichtig die QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie 500 µl Waschpuffer 2 (AW2) hinzu, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.
13. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und zentrifugieren Sie 1 min lang bei voller Drehzahl (ca. 20 000 x g oder 14 000 U/min). Stellen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (Wash Tube, WT) und werfen Sie das Röhrchen mit dem Filtrat.
14. Zentrifugieren Sie 3 min lang bei voller Drehzahl (ca. 20 000 x g oder 14 000 U/min), um die Membran vollständig zu trocknen.

Hinweis: Das Auslassen der Zentrifugation zur Trocknung kann zu einer Hemmung der nachgelagerten Anwendung führen.

15. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Elutionsröhrchen (ET) und entsorgen Sie das Waschröhrchen (WT) mit dem Filtrat. Öffnen Sie vorsichtig den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie 50 bis 200 µl Elutionspuffer (AE) (je nach nachgeschalteter Anwendung) in die Mitte der Membran.

① Verwenden Sie ein neues Elutionsröhrchen (ET), um eine Kontamination mit Resten der Waschpuffer zu vermeiden, die zu einer Hemmung der nachgeschalteten Anwendung führen könnte.

① Geben Sie bei kleineren Elutionsvolumina den Elutionspuffer (AE) in die Mitte der Membran, um eine optimale Rückgewinnung von Nukleinsäuren und Elutionspuffer (AE) zu gewährleisten.

① Das Elutionsvolumen sollte entsprechend den Anforderungen der nachgelagerten Anwendung gewählt werden. Im automatisierten Workflow sind Elutionsvolumina von 100–200 µl in 10-µl-Schritten möglich. Das gewonnene Eluatvolumen kann geringer sein als das auf die Säule aufgegebene Volumen an Elutionspuffer, da nach der Zentrifugation Reste des Elutionspuffers von der Membran der Spin-Säule zurückgehalten werden.

① Stellen Sie sicher, dass der Elutionspuffer auf Raumtemperatur temperiert ist.

16. Schließen Sie den Deckel und inkubieren Sie 1 Minute lang bei Raumtemperatur.
17. Setzen Sie das Elutionsröhrchen (ET) in die Zentrifuge ein. Richten Sie die ET-Deckel so aus, dass sie entgegen der Drehrichtung des Rotors zeigen (z. B. wenn sich der Rotor im Uhrzeigersinn dreht, richten Sie die Deckel gegen den Uhrzeigersinn aus). Zentrifugieren Sie ca. 1 min lang bei 6000 x g (8000 U/min), um die DNA zu eluieren.

Hinweis: Entnehmen Sie bei allen automatisierten Verfahren die Eluate unmittelbar nach Abschluss des Laufs aus dem Gerät und lagern Sie diese für die weitere Verwendung.

11. Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Knochenmarkaspirat-Proben mittels einer Mikrozentrifuge

Zur Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus 200 µl Knochenmarkaspirat-Proben, die mit K2-EDTA-Blutentnahmeröhrchen entnommen wurden, unter Verwendung einer Mikrozentrifuge.

Hinweis: Siehe auch die *Gebrauchsanweisung (Handbuch) für das ipsogen IDH1 RGQ PCR Kit*.

Wichtige Hinweise vor Beginn

- In folgendem Verfahren wird die Verarbeitung einer einzelnen Knochenmarkaspirat-Probe beschrieben. Es können jedoch mehrere Proben gleichzeitig verarbeitet werden. Die genaue Anzahl ist abhängig von der Kapazität der verwendeten Mikrozentrifuge.

11.1. Vorbereitende Schritte

- Äquilibrieren Sie die Proben auf Raumtemperatur und stellen Sie sicher, dass sie gut gemischt sind.
- Achten Sie darauf, dass alle Reagenzien und die QIAamp Mini Spin-Säulen (in geschlossenen Blisterpackungen) auf Raumtemperatur äquilibriert werden.
- Stellen Sie einen Heizblock für die Verwendung in Schritt 4 auf 56 °C ein.
- Vergewissern Sie sich, dass Waschpuffer 1 (AW1), Waschpuffer 2 (AW2) und QIAGEN Protease (QP) gemäß den Anweisungen in „Vorbereiten der Reagenzien und Puffer“ in Abschnitt 9. „Wichtige Hinweise vor Beginn“ vorbereitet wurden.
- Wenn sich im Lysepuffer (AL) Niederschlag gebildet hat, lösen Sie diesen durch Inkubation bei 56 °C auf.

- Bei QIAGEN wird jede einzelne Kit-Charge im Rahmen der Qualitätskontrolle zur Freigabe einem Funktionstest unterzogen. Mischen Sie daher keine Reagenzien aus verschiedenen Kit-Chargen und kombinieren Sie keine einzelnen Reagenzien aus verschiedenen Reagenzienchargen.

Verfahren

1. Pipettieren Sie 20 µl QIAGEN Protease (QP) in ein Lyseröhrchen (LT).
Überprüfen Sie vor dem Gebrauch das Verfallsdatum der rekonstituierten Protease.
2. Geben Sie 200 µl der Probe in das Lyseröhrchen (LT).
3. Geben Sie 200 µl Lysepuffer (AL) in das Lyseröhrchen (LT). Schließen Sie den Deckel und mischen Sie den Inhalt des Röhrchens ≥ 15 s lang durch Vortexen in Impulsen.
 Zur Gewährleistung einer effizienten Lyse müssen Probe und Lysepuffer (AL) gründlich vermischt werden, sodass eine homogene Lösung entsteht.
 Da der Lysepuffer (AL) eine hohe Viskosität aufweist, achten Sie darauf, dass das korrekte Volumen von Lysepuffer (AL) zugegeben wird, indem Sie genau pipettieren.
 Die QIAGEN Protease (QP) darf nicht direkt in den Lysepuffer (AL) gegeben werden.
4. Inkubieren Sie 10 min lang bei 56 °C in einem Heizblock.
5. Zentrifugieren Sie das Lyseröhrchen (LT) ≥ 5 s lang bei voller Drehzahl, um Tropfen aus dem Inneren des Deckels zu entfernen.
6. Geben Sie 200 µl Ethanol (96–100 %) in das Lyseröhrchen (LT). Schließen Sie den Deckel und mischen Sie gründlich durch ≥ 15 s langes Vortexen in Impulsen.
7. Zentrifugieren Sie das Lyseröhrchen (LT) ≥ 5 s lang bei voller Drehzahl, um Tropfen aus dem Inneren des Deckels zu entfernen.
8. Geben Sie vorsichtig das gesamte Lysat aus Schritt 7 in die QIAamp Mini Spin-Säule, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.

Hinweis: Wenn Sie mehrere Proben verarbeiten, öffnen Sie immer nur ein Lyseröhrchen (LT) gleichzeitig und achten Sie darauf, die Bildung von Aerosolen zu vermeiden.

9. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und zentrifugieren Sie 1 min lang bei ungefähr $6\,000 \times g$. Stellen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (Wash Tube, WT) und werfen Sie das Röhrchen mit dem Filtrat.
 - a. Wenn das Lysat nach der Zentrifugation bei $6\,000 \times g$ ($8\,000\text{ U/min}$) die Membran nicht vollständig passiert hat, zentrifugieren Sie erneut 1 min lang bei voller Drehzahl (bis zu $20\,800 \times g$).
 - b. Wenn das Lysat während der Zentrifugation die Membran noch nicht passiert hat, entsorgen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule und wiederholen Sie das Verfahren mit einer neuen Probe.
10. Öffnen Sie vorsichtig die QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie $500\text{ }\mu\text{l}$ Waschpuffer 1 (AW1) hinzu, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.
11. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und zentrifugieren Sie 1 min lang bei ca. $6\,000 \times g$. Stellen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (Wash Tube, WT) und werfen Sie das Röhrchen mit dem Filtrat.
12. Öffnen Sie vorsichtig die QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie $500\text{ }\mu\text{l}$ Waschpuffer 2 (AW2) hinzu, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.
13. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und zentrifugieren Sie 1 min lang bei voller Drehzahl (ca. $20\,000 \times g$ oder $14\,000\text{ U/min}$). Stellen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (Wash Tube, WT) und werfen Sie das Röhrchen mit dem Filtrat.
14. Zentrifugieren Sie 3 min lang bei voller Drehzahl (ca. $20\,000 \times g$ oder $14\,000\text{ U/min}$), um die Membran vollständig zu trocknen.

Hinweis: Das Auslassen der Zentrifugation zur Trocknung kann zu einer Hemmung der nachgelagerten Anwendung führen.

15. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Elutionsröhrchen (ET) und entsorgen Sie das Waschröhrchen (WT) mit dem Filtrat. Öffnen Sie vorsichtig den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie 200 µl Elutionspuffer (AE) in die Mitte der Membran.
- ① Verwenden Sie ein neues Elutionsröhrchen, um eine Kontamination durch Waschpufferreste zu vermeiden, die zu einer Hemmung der nachgelagerten Anwendung führen könnten.
 - ① Geben Sie bei kleineren Elutionsvolumina den Elutionspuffer (AE) in die Mitte der Membran, um eine optimale Rückgewinnung von Nukleinsäuren und Elutionspuffer (AE) zu gewährleisten.
 - ① Das Elutionsvolumen sollte entsprechend den Anforderungen der nachgelagerten Anwendung gewählt werden. Denken Sie daran, dass das Volumen des wiedergewonnenen Eluats geringer sein kann als das Volumen des auf die Säule aufgegebenen Elutionspuffers, da Elutionspuffer nach der Zentrifugation von der Membran der Spin-Säule zurückgehalten werden kann.
 - ① Stellen Sie sicher, dass der Elutionspuffer auf Raumtemperatur temperiert ist.
16. Schließen Sie den Deckel und inkubieren Sie 1 Minute lang bei Raumtemperatur.
17. Setzen Sie das Elutionsröhrchen (ET) in die Zentrifuge ein. Richten Sie die ET-Deckel so aus, dass sie entgegen der Drehrichtung des Rotors zeigen (z. B. wenn sich der Rotor im Uhrzeigersinn dreht, richten Sie die Deckel gegen den Uhrzeigersinn aus). Bei ca. 6 000 × g (8 000 U/min) 1 min lang zentrifugieren, um die DNA zu eluieren.

12. Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben unter Verwendung eines Vakuumsystems

Zur Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus 200 µl mit EDTA oder Citrat versetzten Vollblutproben unter Verwendung eines Vakuumsystems wie dem QIAvac 24 Plus Vakuumsystem.

Wichtiger Hinweis, der vor der Durchführung zu beachten ist

In den folgenden Verfahrensanweisungen wird die Verarbeitung einer einzelnen Blutprobe beschrieben. Das QIAvac 24 Plus Vakuumsystem erlaubt jedoch die gleichzeitige Verarbeitung von bis zu 24 Proben.

12.1. Vorbereitende Schritte

- Äquilibrieren Sie die Blutproben auf Raumtemperatur und stellen Sie sicher, dass sie gut gemischt sind.
- Achten Sie darauf, dass alle Reagenzien und die QIAamp Mini Spin-Säulen (in geschlossenen Blisterpackungen) auf Raumtemperatur äquilibriert werden.
- Stellen Sie einen Heizblock für die Verwendung in Schritt 4 auf 56 °C ein.
- Vergewissern Sie sich, dass Waschpuffer 1 (AW1), Waschpuffer 2 (AW2) und QIAGEN Protease (QP) gemäß den Anweisungen in „Vorbereiten der Reagenzien und Puffer“ in Abschnitt 9. „Wichtige Hinweise vor Beginn“ vorbereitet wurden.
- Wenn sich im Lysepuffer (AL) Niederschlag gebildet hat, lösen Sie diesen durch Inkubation bei 56 °C auf.
- Stecken Sie einen VacConnector (VC) in jeden Luer-Adapter des Vakuumsystems, um Kreuzkontamination zu minimieren.

- Stellen Sie sicher, dass die Abfallflasche des Vakuumsystems leer ist und alle Verbindungsstücke korrekt verbunden sind.
- Bei QIAGEN wird jede einzelne Kit-Charge im Rahmen der Qualitätskontrolle zur Freigabe einem Funktionstest unterzogen. Mischen Sie daher keine Reagenzien aus verschiedenen Kit-Chargen und kombinieren Sie keine einzelnen Reagenzien aus verschiedenen Reagenzienchargen.

Verfahren

1. Pipettieren Sie 20 µl QIAGEN Protease (QP) in ein Lyseröhrchen (LT).
 - ⓘ Überprüfen Sie vor dem Gebrauch das Verfallsdatum der rekonstituierten Protease.
2. Geben Sie 200 µl Blutprobe in das Lyseröhrchen (LT).
3. Geben Sie 200 µl Lysepuffer (AL) in das Lyseröhrchen (LT). Schließen Sie den Deckel und mischen Sie den Inhalt ≥ 15 s lang durch Vortexen in Impulsen.
 - ⓘ Zur Gewährleistung einer effizienten Lyse müssen Probe und Lysepuffer (AL) gründlich vermischt werden, sodass eine homogene Lösung entsteht.
 - ⓘ Da der Lysepuffer (AL) eine hohe Viskosität aufweist, achten Sie darauf, dass das korrekte Volumen von Lysepuffer (AL) zugegeben wird, indem Sie genau pipettieren.
 - ⓘ Die QIAGEN Protease (QP) darf nicht direkt in den Lysepuffer (AL) gegeben werden.
4. Inkubieren Sie 10 min lang bei 56 °C in einem Heizblock.
5. Zentrifugieren Sie das Lyseröhrchen (LT) ≥ 5 s lang bei voller Drehzahl, um Tropfen aus dem Inneren des Deckels zu entfernen.
6. Geben Sie 200 µl Ethanol (96–100 %) in das Lyseröhrchen (LT). Schließen Sie den Deckel und mischen Sie den Inhalt gründlich ≥ 15 s lang durch Vortexen in Impulsen.
7. Zentrifugieren Sie das Lyseröhrchen (LT) ≥ 5 s lang bei voller Drehzahl, um Tropfen aus dem Inneren des Deckels zu entfernen.
8. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule auf den VacConnector (VC) des Vakuumsystems. Vergewissern Sie sich, dass das Hauptvakuumventil (zwischen Vakuumsystem und

Vakuumverteiler) und das Schraubkappenventil (am Vakuumverteiler) geschlossen sind. Schalten Sie die Vakuumpumpe ein.

9. Entsorgen Sie das Waschröhrchen (WT) (2 ml), in dem sich die QIAamp Mini Spin-Säule im Blister befindet.

Hinweis: Das Vakuum wird nur an das Verbindungssystem (falls verwendet) angelegt und nicht an den Vakuumverteiler.

10. Geben Sie vorsichtig das gesamte Lysat aus Schritt 7 in die QIAamp Mini Spin-Säule, ohne dabei den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren.

Hinweis: Wenn Sie mehrere Proben verarbeiten, öffnen Sie immer nur ein Lyseröhrchen (LT) gleichzeitig und achten Sie darauf, die Bildung von Aerosolen zu vermeiden.

11. Öffnen Sie das Hauptvakuumventil. Nachdem das Lysat durch die QIAamp Mini Spin-Säule gesogen wurde, schließen Sie das Hauptvakuumventil und öffnen Sie das Schraubkappenventil am Vakuumverteiler, um den Verteiler zu entlüften. Schließen Sie das Schraubkappenventil, nachdem das Vakuum im Verteiler abgebaut wurde.

Nach dem Schließen des Hauptvakuumventils wird das Vakuum nur am Verbindungssystem (falls verwendet) angelegt, nicht am Vakuumverteiler.

i Verwenden Sie für einen schnellen Abbau des Vakuums das Schraubkappenventil am Vakuumverteiler.

Hinweis: Bei gleichzeitiger Verarbeitung mehrerer QIAamp Mini Spin-Säulen empfehlen wir, das VacValve jeder Säule zu schließen, nachdem das Lysat hindurchgelaufen ist, um die Dauer dieses Vakuumschritts zu verkürzen.

- a. Falls das Lysat nach 10 min noch nicht vollständig die Membran passiert hat, setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (WT) ein. Schließen Sie den Deckel und zentrifugieren Sie 3 min lang bei $6\,000 \times g$ (8 000 U/min) oder bis das Lysat vollständig hindurchgelaufen ist. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein anderes sauberes Waschröhrchen (WT) ein und fahren Sie mit Schritt 12 fort.

- b. Wenn das Lysat während der Zentrifugation die Membran noch nicht passiert hat, entsorgen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule und wiederholen Sie das Verfahren mit einer neuen Probe.
12. Geben Sie 750 µl Waschpuffer 1 (AW1) auf die QIAamp Mini Spin-Säule, ohne den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren. Lassen Sie den Deckel der Säule offen und öffnen Sie das Hauptvakuumventil. Nachdem Waschpuffer 1 (AW1) durch die QIAamp Mini Spin-Säule gesogen wurde, schließen Sie das Hauptvakuumventil und öffnen Sie das Schraubkappenventil, um den Verteiler zu entlüften. Schließen Sie das Schraubkappenventil, nachdem das Vakuum im Verteiler abgebaut wurde.
13. Geben Sie 750 µl Waschpuffer 2 (AW2) auf die QIAamp Mini Spin-Säule, ohne den Rand zu benetzen. Achten Sie darauf, dass Sie die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule nicht mit der Pipettenspitze berühren. Lassen Sie den Deckel der Säule offen und öffnen Sie das Hauptvakuumventil. Nachdem Waschpuffer 2 (AW2) durch die QIAamp Mini Spin-Säule gesogen wurde, schließen Sie das Hauptvakuumventil und öffnen Sie das Schraubkappenventil, um den Verteiler zu entlüften. Schließen Sie das Schraubkappenventil, nachdem das Vakuum im Verteiler abgebaut wurde.
14. Schließen Sie den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule, nehmen Sie diese vom Vakuumsystem ab und entsorgen Sie den VacConnector (VC). Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Waschröhrchen (WT) ein und zentrifugieren Sie bei voller Drehzahl (ca. 20 000 × g oder 14 000 U/min) 3 min lang, um die Membran vollständig zu trocknen.

Hinweis: Das Auslassen der Zentrifugation zur Trocknung kann zu einer Hemmung der nachgelagerten Anwendung führen.

15. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule in ein sauberes Elutionsröhrchen (ET) und entsorgen Sie das Waschröhrchen (WT) mit dem Filtrat. Öffnen Sie vorsichtig den Deckel der QIAamp Mini Spin-Säule und geben Sie 50 bis 200 µl Elutionspuffer (AE) (abhängig von der nachgeschalteten Anwendung) in die Mitte der Membran.

① Verwenden Sie ein neues Elutionsröhrchen, um eine Kontamination durch Waschpufferreste zu vermeiden, die zu einer Hemmung der nachgelagerten Anwendung führen könnten.

① Geben Sie bei kleineren Elutionsvolumina den Elutionspuffer (AE) in die Mitte der Membran, um eine optimale Rückgewinnung von Nukleinsäuren und Elutionspuffer (AE) zu gewährleisten.

① Das Elutionsvolumen sollte entsprechend den Anforderungen der nachgelagerten Anwendung gewählt werden. Das gewonnene Eluatvolumen kann geringer sein als das auf die Säule aufgegebene Volumen an Elutionspuffer, da nach der Zentrifugation Reste des Elutionspuffers von der Membran der Spin-Säule zurückgehalten werden.

① Stellen Sie sicher, dass der Elutionspuffer auf Raumtemperatur temperiert ist.

16. Schließen Sie den Deckel und inkubieren Sie 1 Minute lang bei Raumtemperatur.

17. Setzen Sie das Elutionsröhrchen (ET) in die Zentrifuge ein. Richten Sie die ET-Deckel so aus, dass sie entgegen der Drehrichtung des Rotors zeigen (z. B. wenn sich der Rotor im Uhrzeigersinn dreht, richten Sie die Deckel gegen den Uhrzeigersinn aus). Bei ca. 6 000 × g (8 000 U/min) 1 min lang zentrifugieren, um die DNA zu eluieren.

Befolgen Sie nach Durchführung dieses Protokolls die Anweisungen des Wartungsverfahrens für das Vakuumsystem (weitere Einzelheiten finden Sie unter www.qiagen.com/HB-0496).

13. Anwendungseinschränkungen

- Die Systemleistung wurde unter Verwendung von Vollblut zur Isolierung genomischer DNA etabliert.
- Das manuelle Extraktionsprotokoll wurde für die Isolierung genomischer DNA aus Knochenmarkaspirat-Proben in Verbindung mit dem *ipsogen* IDH1 RGQ PCR Kit und dem Protokoll unter Verwendung einer Mikrozentrifuge weiter validiert.
- **Wichtig:** Genomische DNA, die mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit aus Knochenmarkaspirat-Proben isoliert wurde, darf für keinen anderen Zweck als in Kombination mit dem *ipsogen* IDH1 RGQ PCR Kit verwendet werden. Bitte beachten Sie, dass das *ipsogen* IDH1 RGQ PCR Kit in Ihrem Land möglicherweise nicht erhältlich ist. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Einhaltung der lokalen regulatorischen Anforderungen zu gewährleisten.
- Informationen zur Verwendung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kits finden Sie in Abschnitt 3. „Beschreibung und Prinzip“. Das automatisierte Verfahren ist in Abschnitt 10 detailliert beschrieben. „Protokoll: Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus Blutproben unter Verwendung einer Mikrozentrifuge oder automatisierte Aufreinigung mit dem QIAcube Connect MDx“.
- Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, für jedes Verfahren, das im Labor dieses Anwenders durchgeführt wird und nicht durch die Leistungsstudien von QIAGEN abgedeckt ist, die Systemleistung selbst zu validieren.
- Um das Risiko einer negativen Auswirkung auf die Ergebnisse der diagnostischen Tests zu minimieren, sollten in nachgelagerten Anwendungen geeignete Kontrollen verwendet werden. Zur weiteren Validierung werden die Leitlinien der „International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH)“ in *ICH Q2 (R1) Validation Of Analytical Procedures: Text and Methodology* (2) empfohlen.
- Alle generierten diagnostischen Ergebnisse müssen im Zusammenhang mit anderen klinischen Befunden oder Laborbefunden interpretiert werden.

14. Leistungsmerkmale

Die geltenden Leistungsmerkmale finden Sie unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com

15. Literaturangaben

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). *Collection, transport, preparation, and storage of specimens for molecular methods* (CLSI-Dokument MM13-A).
2. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. (2005). *ICH harmonised tripartite guideline: Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1)*.

16. Hilfe zur Fehlerbehebung

In der vorliegenden Hilfe zur Fehlerbehebung finden Sie hilfreiche Informationen zur Behebung möglicher Probleme. Weitere Informationen finden Sie auch auf der Seite „Häufig gestellte Fragen“ (FAQ) in unserem Technischen Support Center unter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Die Wissenschaftler des Technischen Support von QIAGEN beantworten Ihnen gerne alle Fragen zu den Informationen und/oder Protokollen in dieser Gebrauchsanweisung oder zu Proben- und Assay-Technologien (Kontaktinformationen finden Sie unter www.qiagen.com).

Kommentare und Vorschläge

Allgemeine Handhabung

a) Verstopfen der
Pipettenspitzen während des
Probentransfers

Mischen Sie die Proben (z. B. durch mehrmaliges Umdrehen der Röhrchen) vor der Probenüberführung gründlich. Gefrorene Proben sollten in einem 37 °C warmen Wasserbad unter leichtem Schütteln aufgetaut werden, um eine gründliche Durchmischung zu gewährleisten, und anschließend vor Beginn des Verfahrens auf Raumtemperatur äquilibriert werden.

Vermeiden Sie möglichst die Bildung von Gerinnseln in der Probe und überführen Sie die Probe nur, wenn keine Gerinnsel vorhanden sind. Beim Auftauen der Proben entstandene Kryopräzipitate verstopfen die Membran der QIAamp Mini Spin-Säule oder können das automatisierte Verfahren auf dem QIAcube Connect MDx beeinträchtigen.

b) Verstopfte QIAamp Mini Spin-Säule

Für das Zentrifugationsverfahren:

Wenn das Lysat nach der Zentrifugation bei $6\,000 \times g$ ($8\,000\text{ U/min}$) die Membran nicht vollständig passiert hat, zentrifugieren Sie erneut bei voller Drehzahl (bis zu $20\,800 \times g$) für 1 min.

Wenn das Lysat nach der Zentrifugation noch immer nicht die Membran passiert hat, entsorgen Sie die Probe. Wiederholen Sie dann Isolierung und Aufreinigung mit neuem Probenmaterial beginnend bei Schritt 1.

Für das Vakuum-Verfahren:

Bei reduzierter Flussrate kann sich die Vakuumbehandlung verlängern.

Alternativ können Sie das VacValve schließen (falls verwendet) und vorsichtig VacConnector und VacValve von der QIAamp Mini Spin-Säule entfernen. Achten Sie darauf, nichts von dem Lysat zu verlieren.

Nehmen Sie die QIAamp Mini Spin-Säule vom Vakuumverteiler ab und setzen Sie diese in ein

2-ml-Waschröhrchen ein. Zentrifugieren Sie es bei voller Drehzahl, bis die Probe die Membran vollständig passiert hat. Setzen Sie VacConnector und VacValve mit dem verbliebenen Lysat wieder auf die Säule. Schalten Sie die Vakuumpumpe ein, öffnen Sie das VacValve und laden Sie das restliche Lysat.

Wiederholen Sie dieses Vorgehen, wenn die QIAamp Mini Spin-Säule weiterhin verstopft ist.

Wenn das Lysat nach der Zentrifugation noch immer nicht die Membran passiert hat, entsorgen Sie die Probe. Wiederholen Sie dann Isolierung und Aufreinigung mit neuem Probenmaterial beginnend bei Schritt 1.

Allgemeine Informationen

Durch wiederholtes Einfrieren und Auftauen könnten sich Kryopräzipitate gebildet haben. Diese können die QIAamp Mini Spin-Säule verstopfen und das automatisierte Verfahren auf dem QIAcube Connect MDx beeinträchtigen.

Gefrorene Proben sollten in einem 37 °C warmen Wasserbad unter leichtem Schütteln aufgetaut werden, um eine gründliche Durchmischung zu gewährleisten, und anschließend vor Beginn des Verfahrens auf Raumtemperatur äquilibriert werden.

Wenn Kryopräzipitate sichtbar sind, aspirieren Sie diese nicht.

- c) Im Lysepuffer (AL) hat sich ein Niederschlag gebildet Lösen Sie diesen durch Inkubation des Lysepuffers (AL) bei 56 °C auf.
- d) Variable Elutionsvolumen Das gewonnene Eluatvolumen hängt vom Probentyp ab.
Aufgrund von Elutionspuffer (AE), der von der Spin-Säule nach der Zentrifugation zurückgehalten wird, kann das gewonnene Eluatvolumen niedriger sein als das Volumen an auf die Säule aufgetragenem Elutionspuffer.
Geben Sie den Elutionspuffer (AE) auf die Mitte der Membran. Insbesondere bei kleineren Elutionsvolumina ist es wichtig, den Elutionspuffer (AE) auf die Mitte der Membran zu dispensieren, um eine optimale Gewinnung von Nukleinsäuren und Elutionspuffer (AE) zu gewährleisten.
- e) Vakuumdruck von ca. 800–900 mbar nicht erreicht **Der Vakuumverteiler ist nicht fest verschlossen.** Drücken Sie nach Einschalten des Vakuums auf den Deckel des Vakuumverteilers. Überprüfen Sie, ob der Vakuumdruck erreicht wird.
Dichtung des QIAvac Deckels hat sich abgenutzt. Überprüfen Sie visuell die Dichtung des Vakuumverteilers und ersetzen Sie diese bei Bedarf.
VacValves haben sich abgenutzt. Entfernen Sie alle VacValves und setzen Sie die VacConnectors (VC) direkt in die Luer-Aufnahmen ein. Setzen Sie die QIAamp Mini Spin-Säulen in die VacConnectors (VC) ein. Schließen Sie die Deckel der Säulen und schalten Sie das Vakuum ein. Überprüfen Sie, ob der Vakuumdruck erreicht wird. Ersetzen Sie die VacValves, falls erforderlich.
Die Verbindung zur Vakuumpumpe ist undicht. Schließen Sie alle Luer-Aufnahmen mit Luer-Kappen und schalten Sie die Vakuumpumpe ein. Überprüfen Sie, ob der Vakuumdruck nach Einschalten der Pumpe (und bei geschlossenem Vacuum Regulator-Ventil) stabil bleibt. Tauschen Sie bei Bedarf die Verbindungen zwischen Pumpe und Vakuumverteiler aus.
Wenn der Vakuumdruck noch immer nicht erreicht wird, ersetzen Sie die Vakuumpumpe durch ein leistungsstärkeres Gerät.
- f) Bei Problemen im automatisierten Arbeitsablauf Siehe QIAcube Connect MDx Benutzerhandbuch (zu finden unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com).

Geringe DNA-Ausbeute

a) Unvollständige Probenlyse

Wenn QIAGEN Protease (QP) über einen längeren Zeitraum erhöhten Temperaturen ausgesetzt wird, kann sie ihre Aktivität verlieren. Wiederholen Sie das Verfahren mit neuen Proben und frischer QIAGEN Protease (QP).

Achten Sie darauf, die QIAGEN Protease (QP) gemäß der vorstehenden Anleitung mit Protease Solvent (PS, Lösungsmittel für Protease) zu lösen. Mischen Sie das Fläschchen mehrmals durch Umschwenken, um Schaumbildung zu vermeiden. Stellen Sie sicher, dass die QIAGEN Protease (QP) vollständig gelöst ist. Die QIAGEN Protease (QP) darf nicht direkt in den Lysepuffer (AL) gegeben werden.

Zur Gewährleistung einer effizienten Lyse müssen Probe und Lysepuffer (AL) gründlich vermischt werden, sodass eine homogene Lösung entsteht. Da der Lysepuffer (AL) eine hohe Viskosität aufweist, achten Sie darauf, dass das korrekte Volumen von Lysepuffer (AL) zugegeben wird. Pipettieren Sie dafür langsam und verwenden Sie eine geeignete Pipette.

b) Verwendung von niedrigprozentigem Ethanol statt 96–100 %

Wiederholen Sie die Nukleinsäure-Aufreinigung mit neuen Proben und 96–100 % Ethanol.

Es darf kein denaturierter Alkohol verwendet werden, der andere Stoffe wie z. B. Methanol oder Methylethylketon enthält.

c) Puffer AW1 oder Puffer AW2 falsch zubereitet

Achten Sie darauf, dass die Puffer AW1- und Puffer AW2-Konzentrate mit der richtigen Menge Ethanol (96–100 %) verdünnt und durch mehrmaliges Umdrehen gemischt wurden, bevor Sie das Verfahren beginnen.

d) Proben wurden nicht ordnungsgemäß gelagert

Die Ausbeute und Qualität der aufgereinigten DNA hängen von den Bedingungen bei der Lagerung der Probe ab. Das Einfrieren und Auftauen von Proben kann Auswirkungen auf die DNA-Ausbeute und -Qualität haben. Es obliegt dem Anwender, die Gebrauchsanweisung zu der speziellen, in seinem Labor nachgelagerten Anwendung zu lesen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Lagerbedingungen festzulegen.

e) Gefrorene Proben wurden nach dem Auftauen nicht ordnungsgemäß gemischt

Gefrorene Proben sollten in einem 37 °C warmen Wasserbad unter leichtem Schütteln aufgetaut werden, um eine gründliche Durchmischung zu gewährleisten, und anschließend vor Beginn des Verfahrens auf Raumtemperatur äquilibriert werden.

DNA liefert in nachgelagerten Reaktionen keine guten Ergebnisse

- | | |
|--|---|
| a) Wenig oder keine DNA im Eluat | Siehe „Zu niedrige DNA-Ausbeute“ oben für mögliche Ursachen. Erhöhen Sie, wenn möglich, die Menge des in der Reaktion eingesetzten Eluats. |
| b) Ungeeignetes Elutionsvolumen verwendet | Das Elutionsvolumen sollte entsprechend den Anforderungen der nachgelagerten Anwendung gewählt werden. Die Elution in kleineren Volumina von Puffer AE führt zwar zu höheren Nukleinsäure-Konzentrationen, kann aber die Gesamtausbeute verringern. |
| c) Unzureichende DNA-Menge verwendet | Quantifizieren Sie die aufgereinigte DNA mittels spektrophotometrischer Messung der Extinktion bei 260 nm. |
| d) Überschüssige DNA-Menge verwendet | Wenn zu viel DNA verwendet wird, kann dies einige enzymatische Reaktionen inhibieren. Quantifizieren Sie die aufgereinigte DNA mittels spektrophotometrischer Messung der Extinktion bei 260 nm. |
| e) Potenzielle Verschleppung von Inhibitoren | Achten Sie darauf, dass Sie vor der Elution einen Trockenzentrifugationsschritt durchführen, um eine mögliche Hemmung der nachgelagerten Anwendung zu vermeiden. Es ist wichtig, ein neues Elutionsröhrchen (ET) zu verwenden, um eine Kontamination mit Resten des Waschpuffers zu vermeiden, die zu einer Hemmung der nachgelagerten Anwendung führen könnte. |

17. Symbole

Die folgenden Symbole können in der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Kennzeichnung zu sehen sein:

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Enthält ausreichend Reagenzien für <N> Reaktionen
	Verwendbar bis
	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der europäischen Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.
	In-vitro-Diagnostikum
	Bei Lieferung
	Bei Lieferung öffnen; QIAamp Mini Spin-Säulen bei 2–8 °C lagern
	Katalognummer
	Chargenbezeichnung
	Materialnummer (d. h. Kennzeichnung von Komponenten)
	Komponenten
	Enthält
	Nummer
	Internationale Artikelnummer

Symbol	Bedeutung des Symbols
Rn	R steht für Revision der Gebrauchsanweisung, n ist die Revisionsnummer
	Temperaturgrenzwerte
	Hersteller
	Gebrauchsanweisung beachten
	Volumen
	Nach Zugabe von Ethanol in die Flasche das aktuelle Datum notieren
	Hinzugeben
	Lyophilisiert
	Rekonstituieren in
	Ethanol
	Guanidinhydrochlorid
	Führt zu
	Wichtiger Hinweis
	Unique Device Identifier (eindeutige Geräteerkennung)
	Maleinsäure
	Warnung/Vorsicht

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Korrosiv
	Gefährlich
	Gesundheitsgefahr

18. Kontakt

Für technische Unterstützung und weitere Informationen besuchen Sie bitte unser technisches Support-Center unter support.qiagen.com

19. Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Kat. -Nr.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Für 50 Vorbereitungen: QIAamp Mini Spin-Säulen, Puffer, Reagenzien, Röhrchen, VacConnectors	61104
Zugehörige Produkte		
QIAcube Connect MDx*	Gerät	9003070
QIAvac 24 Plus-System [†]	Vakuumverteiler zur Verarbeitung von 1–24 Spin-Säulen: enthält QIAvac 24 Plus Vacuum Manifold, Luer-Stopfen, Schnellkupplungen	19413
Vacuum Pump (230 V, 50 Hz) [†]	Universal-Vakuumpumpe	84020 oder 9003250
VacConnectors (500) [†]	500 Einweg-Verbindungsstücke zur Verwendung mit QIAamp Spin-Säulen auf Luer-Verbindungsstücken	19407
VacValves (24) [†]	24 Ventile zur Verwendung mit QIAvac 24 und QIAvac 24 Plus	19408
QIAvac Connecting System [†]	System zur Verbindung von Vakuumverteiler und Vakuumpumpe: enthält Ablage, Abfallflaschen, Schläuche, Kupplungen, Ventil, Messgerät und 24 VacValves	19419
Rotor Adapters (10 x 24)	Für 240 Vorbereitungen: 240 Einweg-Rotoradapter und 240 Elutionsröhrchen (1,5 ml); zur Verwendung mit dem QIAcube Connect MDx	990394
Rotor Adapter Holder	Halter für 12 Einweg-Rotoradapter; zur Verwendung mit dem QIAcube Connect MDx	990392
Sample Tubes (Probenröhrchen) CB (2 ml)	1 000 konische Röhrchen mit Schraubverschluss ohne Stehrand (2 ml) zur Verwendung mit dem QIAcube Connect MDx	990382
Schüttlergestellstopfen	Zum Beladen des QIAcube Connect MDx Schüttlergestells	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Reagenzflaschen (30 ml) mit Deckeln; 6er-Pack; zur Verwendung mit dem QIAcube Connect MDx	990393
Filterspitzen, 1 000 µl (1024)	Einmal-Filterspitzen in Racks (8 x 128). Zur Verwendung mit dem QIAcube Connect MDx	990352

Produkt	Inhalt	Kat. -Nr.
Filterspitzen, 1 000 µl, mit weiter Öffnung (1024)	Einweg-Filterspitzen, mit weiter Öffnung, in Racks; (8 × 128); nicht für alle Protokolle erforderlich. Zur Verwendung mit dem QIAcube Connect MDx	990452
Filterspitzen, 200 µl (1024)	Einmal-Filterspitzen in Racks (8 × 128). Zur Verwendung mit QIAcube Connect MDx und QIASymphony SP/AS Geräten	990332

* Der QIAcube Connect MDx ist nicht in allen Ländern erhältlich. Für weitere Details kontaktieren Sie bitte den technischen Service von QIAGEN.

† Zur Verwendung mit Vakuum-Protokollen.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie in der Gebrauchsanweisung für das jeweilige QIAGEN Kit. Gebrauchsanweisungen für QIAGEN Kits sind unter www.qiagen.com verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

20. Revisionsverlauf des Dokuments

Revision	Beschreibung
R1, Juni 2022	Version 3, Revision 1 • Aktualisierung auf Kit-Version 3 zur Einhaltung der Verordnung für In-vitro-Diagnostika (IVDR) • Aktualisierung von „Beschreibung und Prinzip“ • Aktualisierung von „Im Lieferumfang enthaltene Materialien“ (Hinzufügung von aktiven Inhaltsstoffen) und „Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien“ • Aktualisierung von „Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen“ (Hinzufügung von Informationen für Notfälle und eines Abschnitts zur Entsorgung) • Aktualisierung von „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ • Aktualisierung von „Entnahme, Lagerung und Handhabung von Proben“ • Aktualisierung von „Wichtige Hinweise“ und „Verfahren“ • Aktualisierung von „Anwendungseinschränkungen“ • Aktualisierung von „Leistungsmerkmale“ • Aktualisierung des Abschnitts „Symbole“ • Aktualisierung von „Bestellinformationen“

R2, Mai 2026

Version 3, Revision 2

- Beschreibung und Prinzip: Ergänzung von Informationen zu Knochenmarkaspiraten und redaktionelle Änderungen
- Aktualisierung von „Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien“
- Aktualisierung von „Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen“
- Aktualisierung von „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“
- Probenentnahme, Lagerung und Handhabung: Aktualisierung der Informationen zu Blutproben, Ergänzung von Informationen zu Knochenmarkaspiraten und redaktionelle Änderungen
- Abschnitt „Verfahren“: Zusätzliches Protokoll für Knochenmarkaspirate und redaktionelle Änderungen
- Einschränkungen: Ergänzung von Informationen zu Knochenmarkaspiraten
- Aktualisierung von „Hilfe zur Fehlerbehebung“
- Aktualisierung des Abschnitts „Symbole“
- Aktualisierung von „Bestellinformationen“

Begrenzte Lizenzvereinbarung für das QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit

Mit der Verwendung dieses Produkts erkennt der Käufer oder Anwender des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den mit dem Produkt und dieser Gebrauchsanweisung bereitgestellten Protokollen und nur mit den im Panel enthaltenen Komponenten verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen ihrer geistigen Eigentumsrechte keine Lizenz zur Verwendung oder Kombination der Komponenten dieses Panels mit anderen Komponenten, die nicht in diesem Panel enthalten sind, mit Ausnahme der Anwendungen, die in den mit dem Produkt bereitgestellten Protokollen, dieser Gebrauchsanweisung sowie zusätzlichen, unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschrieben werden. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von QIAGEN Anwendern für andere QIAGEN Anwender zur Verfügung gestellt. Diese Protokolle wurden von QIAGEN nicht eingehend getestet oder optimiert. QIAGEN übernimmt für diese weder eine Garantie noch wird gewährleistet, dass sie keine Rechte Dritter verletzen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieses Panel und/oder die mit diesem Panel durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieses Panel und die zugehörigen Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Panels stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen oder solche erleichtern könnten. QIAGEN ist berechtigt, die Untersagungen in dieser begrenzten Lizenzvereinbarung vor einem beliebigen Gericht einzuklagen und wird alle seine Untersuchungs- und Gerichtskosten, einschließlich der Anwaltsgebühren, in jedwedem Verfahren zur Durchsetzung dieser begrenzten Lizenzvereinbarung oder seiner geistigen Eigentumsrechte an dem Panel und/oder seinen Komponenten zurückfordern.

Informationen zu aktualisierten Lizenzbedingungen finden Sie unter www.qiagen.com.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co. KG). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.

05/2026 HB-3030-002 R2 © 2026 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit-Handbuch oder Benutzerhandbuch. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter www.qiagen.com verfügbar oder können beim technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.); Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.

05/2026 HB-3030-D01-002 © 2026 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.