

# Petunjuk Penggunaan QIAamp<sup>®</sup> DSP Circulating NA Kit (Buku Pegangan)



Versi 2



Untuk Penggunaan Diagnostik In Vitro



61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Jerman



1127632ID

# Isi

Tujuan Penggunaan .....	4
Pengguna yang Dimaksudkan .....	4
Deskripsi dan Prinsip.....	5
Volume sampel .....	5
Sampel lisis .....	7
Penyerapan membran kolom QIAamp Mini .....	7
Pembersihan residu kontaminan .....	7
Elusi asam nukleat murni .....	8
Hasil dan ukuran asam nukleat .....	8
Deskripsi protokol.....	9
Rangkuman dan penjelasan.....	9
Bahan yang Disediakan .....	10
Isi kit.....	10
Komponen kit.....	11
Bahan yang Diperlukan tetapi Tidak Disediakan .....	12
Reagen tambahan .....	12
Bahan Habis Pakai.....	12
Peralatan.....	13
Peringatan dan Pencegahan .....	14
Informasi keselamatan .....	14
Informasi darurat.....	15
Tindakan pencegahan .....	15

<b>Pembuangan</b> .....	16
Penyimpanan dan Penanganan Reagen .....	17
<b>Stabilitas saat penggunaan</b> .....	17
Penyimpanan dan Penanganan Spesimen .....	18
Prosedur .....	19
Penyiapan Dapar dan Reagen .....	26
Protokol Breeze: Pemurnian Asam Nukleat yang Beredar dari 1–5 ml Plasma Darah Manusia .....	29
Protokol Klasik: Pemurnian Asam Nukleat yang Beredar dari 1–5 ml Plasma Darah Manusia .....	34
Pengendalian Mutu .....	39
Batasan .....	39
Karakteristik Kinerja .....	40
Referensi .....	41
Panduan Pemecahan Masalah .....	42
Simbol .....	45
Lampiran A: Rekomendasi untuk Pemisahan dan Penyimpanan Plasma Darah .....	48
Lampiran B: Catatan Umum tentang Penanganan RNA .....	50
Informasi Pemesanan .....	51
Riwayat Revisi Dokumen .....	52

## Tujuan Penggunaan

QIAamp DSP Circulating NA Kit adalah sistem yang menggunakan teknologi membran silika (teknologi QIAamp) mengisolasi dan memurnikan secara manual RNA dan DNA bebas-sel yang beredar dari sampel plasma darah manusia.

QIAamp DSP Circulating NA Kit ditujukan untuk penggunaan diagnostik in vitro.

## Pengguna yang Dimaksudkan

Produk ini ditujukan untuk digunakan oleh pengguna profesional, seperti teknisi dan dokter, yang terlatih dalam teknik biologis molekuler.

# Deskripsi dan Prinsip

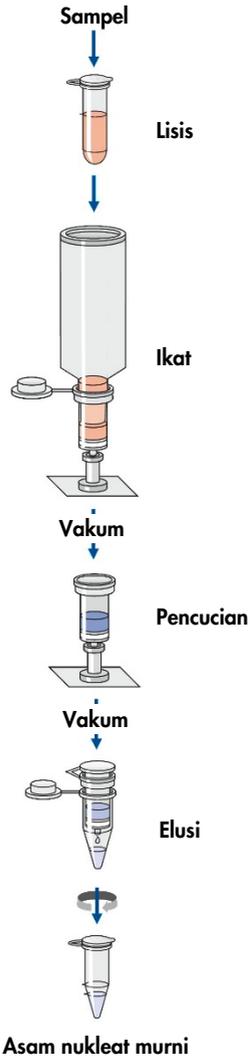
Prosedur QIAamp DSP Circulating NA terdiri dari 4 langkah (lisis, pengikatan, pencucian, dan elusi) dan dilakukan menggunakan kolom QIAamp Mini pada sistem QIAvac. Prosedur yang kuat membantu meminimalkan kontaminasi silang sampel-ke-sampel dan meningkatkan keselamatan pengguna saat menangani sampel yang berpotensi infeksius.

Prosedur sederhana cocok untuk pemrosesan bersamaan hingga 24 sampel dalam waktu kurang dari 2 jam.

## Volume sampel

Kolom QIAamp Mini mengikat asam nukleat yang difragmentasi dengan panjang 20 nt, tetapi hasilnya bergantung pada volume sampel dan konsentrasi asam nukleat yang beredar dalam sampel (biasanya 1–100 ng/ml dalam plasma). Prosedur QIAamp DSP Circulating NA telah dioptimalkan untuk volume sampel hingga 5 ml.

Prosedur QIAamp DSP  
Circulating NA Kit



Gambar 1. Ikhtisar prosedur QIAamp DSP Circulating NA Kit.

## Sampel lisis

Asam nukleat yang beredar bebas dalam cairan biologis biasanya terikat pada protein atau terbungkus dalam vesikel, yang memerlukan langkah lisis yang efisien untuk melepaskan asam nukleat untuk pengikatan selektif pada kolom QIAamp Mini. Oleh karena itu, sampel dilisis pada kondisi denaturasi tinggi pada suhu yang ditingkatkan dalam adanya proteinase K dan Buffer ACL, yang memastikan penonaktifan DNase dan RNase serta pelepasan asam nukleat dari vesikel, lipid, dan protein terikat.

## Penyerapan membran kolom QIAamp Mini

Guna memungkinkan pengikatan optimal asam nukleat yang beredar pada membran, kondisi pengikatan disesuaikan dengan penambahan Buffer ACB pada lisat. Lisat kemudian ditransfer ke kolom QIAamp Mini, dan asam nukleat yang beredar diserap dari volume yang banyak ke membran silika saat lisat ditarik dengan tekanan vakum. Kondisi pH dan garam memastikan agar sebagian besar protein dan kontaminan lain, yang dapat menghambat PCR dan reaksi enzimatik downstream lain, tidak tertahan pada membran kolom QIAamp Mini.

Manifold vakum (misalnya, QIAvac 24 Plus dengan QIAvac Connecting System) dan pompa vakum yang mampu memproduksi vakum sebesar  $-800$ – $900$  mbar (misalnya, QIAGEN® Vacuum Pump) diperlukan untuk protokol. Vacuum Regulator harus digunakan (bagian dari QIAvac Connecting System) untuk pemantauan tekanan vakum dan rilis vakum yang mudah.

## Pembersihan residu kontaminan

Asam nukleat tetap terikat ke membran, sementara kontaminan terbilas secara efisien dalam 3 langkah pencucian.

## Elusi asam nukleat murni

Elusi dilakukan menggunakan Buffer AVE. Dalam satu langkah, asam nukleat yang beredar yang sangat murni dielusi dalam Buffer AVE, disetimbangkan di suhu ruang. Volume elusi fleksibel sebesar 50–150 µl dapat diterapkan. Jika diperlukan konsentrasi asam nukleat yang lebih tinggi, volume elusi dapat dikurangi hingga sebesar 20 µl. Volume elusi yang lebih rendah dari 50 µl menyebabkan eluat asam nukleat dengan konsentrasi lebih tinggi namun dapat menghasilkan total hasil yang lebih rendah.

Volume eluat yang dipulihkan adalah maksimal 5 µl di bawah volume dapar elusi yang diterapkan pada kolom.

## Hasil dan ukuran asam nukleat

Hasil asam nukleat yang beredar bebas yang terisolasi dari sampel biologis normalnya di bawah 1 µg sehingga sulit untuk ditentukan dengan spektrofotometer. Hasil mutlak DNA dan RNA yang beredar yang diperoleh dari sampel menggunakan QIAamp DSP Circulating NA Kit bermacam-macam di antara sampel dari individu yang berbeda dan juga bergantung pada faktor lain (misalnya, status penyakit tertentu). Selain itu, RNA pembawa yang ada dalam asam nukleat yang diekstrak cenderung mendominasi pembacaan penyerapan UV (lihat halaman 27). Metode amplifikasi kuantitatif direkomendasikan untuk penentuan hasil.

Ukuran distribusi asam nukleat yang beredar yang dimurnikan menggunakan QIAamp DSP circulating NA Kit dapat diperiksa dengan hibridisasi atau elektroforesis gel agarosa pada probe yang berlabel spesifik target (1) atau larutan elektroforesis mikrofluida (misalnya, Agilent® Bioanalyzer).

## Deskripsi protokol

Dua protokol yang berbeda disediakan dalam buku pegangan ini.

- “Protokol Breeze: Pemurnian Asam Nukleat yang Beredar dari 1–5 ml Plasma Darah Manusia” (halaman 29) adalah untuk pemrosesan hingga 5 ml plasma dalam 1 ml langkah dan telah dioptimalkan untuk waktu praktik dan penyelesaian yang lebih singkat.
- “Protokol Klasik: Pemurnian Asam Nukleat yang Beredar dari 1–5 ml Plasma Darah Manusia” (halaman 34) adalah untuk pemrosesan hingga 5 ml plasma dalam 1 ml langkah dan terdiri dari protokol yang tidak berubah pada *Buku Pegangan QIAamp DSP Circulating NA Kit* versi 1, revisi 3 (R3).

## Rangkuman dan penjelasan

Asam nukleat yang beredar bebas terdapat dalam plasma darah biasanya sebagai fragmen pendek, <1000 bp (DNA), <1000 nt (RNA), atau dengan ukuran kecil sebesar 20 nt (miRNA). Konsentrasi asam nukleat yang beredar bebas dalam plasma darah manusia biasanya rendah dan sangat beragam di antara individu dengan kisaran mulai 1–100 ng/ml dalam sampel manusia (2–6).

QIAamp DSP Circulating NA Kit memungkinkan pemurnian yang efisien pada asam nukleat yang beredar dari plasma manusia. Sampel boleh berupa sampel segar atau beku. Pemrosesan vakum dan extension tubes pada QIAvac 24 Plus memungkinkan volume sampel awal hingga 5 ml, dan volume elusi fleksibel antara 20 dan 150 µl memungkinkan konsentrasi spesies asam nukleat yang ada dalam konsentrasi rendah.

RNA atau DNA genomik beredar bebas yang dielusi siap digunakan dalam aplikasi downstream atau cocok untuk disimpan. Pengguna harus mengoptimalkan input plasma dan volume elusi untuk aplikasi downstream dan target spesifiknya di laboratoriumnya.

# Bahan yang Disediakan

## Isi kit

<b>QIAamp DSP Circulating NA Kit</b>	<b>(50)</b>
<b>No. katalog</b>	<b>61504</b>
<b>Jumlah penyiapan</b>	<b>50</b>

	Identitas	Simbol	Kuantitas
QIAamp Mini	QIAamp Mini columns (Kolom QIAamp Mini) dengan Wash Tubes (Tabung Pencucian) (WT) (2 ml)	<b>COL</b>	50
EXT	Column Extenders (Ekstensi Kolom) (20 ml)	<b>COL EXT</b>	2 x 25
WT	Wash Tubes (Tabung Pencucian) (2 ml)	<b>WASH TUBE</b>	50
ET	Elution Tubes (Tabung Elusi) (1,5 ml)	<b>ELU TUBE</b>	50
VC	VacConnectors (Konektor Vac)	<b>VAC CON</b>	50
ACL*	Lysis Buffer* (Dapar Lisis)	<b>LYS BUF</b>	220 ml
ACB*	Binding Buffer* (Dapar Pengikat) (konsentrat)	<b>BIND BUF CONC</b>	300 ml
ACW1*	Wash Buffer 1* (Dapar Pencucian 1) (konsentrat)	<b>WASH BUF 1 CONC</b>	19 ml
ACW2†	Wash Buffer 2† (Dapar Pencucian 2) (konsentrat)	<b>WASH BUF 2 CONC</b>	13 ml
AVE†	Elution Buffer† (Dapar Elusi) (penutup ungu)	<b>ELU BUF</b>	5 x 2 ml
PROTK	QIAGEN Proteinase K	<b>PROTK</b>	4 x 7 ml
Carrier	Carrier RNA (RNA Pembawa) (penutup merah)	<b>CAR RNA</b>	310 µg
QIAamp Mini	QIAamp Mini columns (Kolom QIAamp Mini) dengan Wash Tubes (Tabung Pencucian) (WT) (2 ml)	<b>COL</b>	50
	Buku Pegangan	<b>H B</b>	1

\* Mengandung garam kaotropik. Lihat halaman 14 untuk Peringatan dan Pencegahan.

† Mengandung natrium azida sebagai bahan pengawet.

## Komponen kit

Komponen utama kit dijelaskan di bawah.

**Tabel 1. Bahan Aktif dalam reagen yang disediakan**

Reagen		Bahan Aktif	Konsentrasi
Simbol	Nama		
ACL	Lysis Buffer (Dapar Lisis)	Guanidina tiosianat	≥30 hingga <50% w/w
ACB	Binding Buffer (Dapar Pengikat) (konsentrat)	Guanidina tiosianat	≥30 hingga <50% w/w
ACW1	Wash Buffer 1 (Dapar Pencucian 1) (konsentrat)	Guanidina hidroklorida	≥30 hingga <60% w/w
ACW2	Wash Buffer 2 (Dapar Pencucian 2) (konsentrat)	Tidak ada	–
AVE	Elution Buffer (Dapar Elusi) (penutup ungu)	Tidak ada	–
PROTK	QIAGEN Proteinase K	Proteinase K	≥1 hingga <3% w/w
Carrier	Carrier RNA (RNA Pembawa) (penutup merah)	Tidak ada	–

## Kontrol dan kalibrasi

Untuk meminimalkan risiko setiap dampak negatif pada hasil diagnostik yang dihasilkan setelah isolasi asam nukleat, kendali yang memadai untuk penggunaan hilir harus digunakan.

# Bahan yang Diperlukan tetapi Tidak Disediakan

## Reagen tambahan

- Etanol (96–100%)\*
- Isopropanol (100%)
- Es yang dihancurkan (hanya untuk "Protokol Klasik: Pemurnian Asam Nukleat yang Beredar dari 1–5 ml Plasma Darah Manusia".)
- Beberapa sampel mungkin memerlukan pengenceran dengan larutan garam berdapar fosfat (phosphate-buffered saline, PBS)

## Bahan Habis Pakai

- Pipet (dapat disesuaikan)
- Ujung pipet steril (ujung pipet dengan penghalang aerosol disarankan untuk membantu mencegah kontaminasi silang)
- Tabung mikro bebas nuklease 1,5 atau 2 ml
- Tabung sentrifugasi 50 ml

\* Jangan gunakan alkohol denaturasi, yang mengandung bahan lain seperti metanol atau metiletiletanon.

## Peralatan

- Penangas air atau blok pemanas yang mampu menampung tabung sentrifugasi 50 ml pada suhu 56 °C atau 60 °C.\*
- Blok pemanas atau yang serupa pada suhu 56 °C yang mampu menampung tabung pencucian 2 ml (hanya untuk Protokol Klasik)\*
- Vortexer
- Microcentrifuge (dengan rotor untuk tabung 2 ml)\*
- QIAvac 24 Plus vacuum manifold (no. kat. 19413)
- QIAvac Connecting System (no. kat. 19419) atau yang setara
- Vacuum Pump (no. kat. 84010 [AS dan Kanada], 84000 [Jepang], atau 84020 [seluruh dunia]) atau pompa yang setara yang mampu memproduksi vakum sebesar -800 to -900 mbar
- Opsional: VacValves (no. kat. 19408)

\* Pastikan bahwa instrumen telah diperiksa dan dikalibrasi sesuai dengan rekomendasi produsen.

# Peringatan dan Pencegahan

Perlu diketahui bahwa Anda mungkin diwajibkan untuk berkonsultasi dengan peraturan lokal Anda untuk melaporkan insiden serius yang terjadi sehubungan dengan perangkat pada produsen dan otoritas regulasi tempat pengguna dan/atau pasien berada.

Untuk Penggunaan Diagnostik In Vitro

## Informasi keselamatan

Saat bekerja dengan bahan kimia, selalu kenakan jas lab yang sesuai, sarung tangan sekali pakai, dan kacamata pelindung. Untuk informasi lebih lanjut, periksalah lembar data keselamatan (Safety Data Sheets, SDS) yang sesuai. Panduan tersedia online dalam format PDF yang mudah dan praktis di [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), di mana Anda dapat menemukan, melihat, dan mencetak SDS untuk setiap kit dan komponen kit QIAGEN.

PERINGATAN

Risiko cedera pribadi



JANGAN menambahkan pemutih atau larutan asam secara langsung ke limbah penyiapan sampel.

Buffer ACL, Buffer ACB, dan Buffer ACW1 mengandung garam guanidina, yang dapat menghasilkan senyawa yang sangat reaktif saat dicampur dengan pemutih.

Apabila cairan yang mengandung buffer ini tumpah, bersihkan dengan detergen laboratorium yang sesuai dan air. Apabila cairan yang tumpah mengandung zat yang berpotensi infeksius, bersihkan area yang terkena terlebih dahulu dengan detergen laboratorium dan air, kemudian dengan 1% (v/v) natrium hipoklorit.

- Spesimen dan sampel berpotensi menyebabkan infeksi. Buang limbah sampel dan uji kadar sesuai dengan prosedur keselamatan setempat.

## Informasi darurat

CHEMTREC

AS & Kanada 1-800-424-9300

Luar AS & Kanada +1 703-527-3887

## Tindakan pencegahan

Pernyataan bahaya dan pencegahan berikut ini berlaku untuk komponen-komponen QIAamp DSP Circulating NA Kit.

### Buffer ACB



Mengandung: guanidina tiosianat. Bahaya! Berbahaya jika tertelan. Dapat berbahaya jika terkena kulit atau jika terhirup. Menyebabkan luka bakar yang parah pada kulit dan kerusakan mata. Berbahaya bagi kehidupan air dengan efek jangka panjang. Kontak dengan asam dapat membebaskan gas yang sangat beracun. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah. JIKA TERKENA MATA: Bilas secara hati-hati dengan air selama beberapa menit. Lepaskan lensa kontak, jika ada dan mudah dilakukan. Lanjutkan membilas. Segera hubungi PUSAT BANTUAN KERACUNAN atau dokter.

### Buffer ACL



Mengandung: guanidina tiosianat. Bahaya! Berbahaya jika tertelan. Dapat berbahaya jika terkena kulit atau jika terhirup. Menyebabkan luka bakar yang parah pada kulit dan kerusakan mata. Berbahaya bagi kehidupan air dengan efek jangka panjang. Kontak dengan asam dapat membebaskan gas yang sangat beracun. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah. JIKA TERKENA MATA: Bilas secara hati-hati dengan air selama beberapa menit. Lepaskan lensa kontak, jika ada dan mudah dilakukan. Lanjutkan membilas. Segera hubungi PUSAT BANTUAN KERACUNAN atau dokter.

### Buffer ACW1



Mengandung: guanidina hidroklorida. Peringatan! Berbahaya jika tertelan atau terhirup. Menyebabkan iritasi kulit. Menyebabkan iritasi mata serius. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah. Lepaskan pakaian yang terkontaminasi dan cuci sebelum dikenakan kembali. Buang isi/wadah ke tempat pembuangan limbah yang disetujui.

## Proteinase K



Mengandung: Proteinase K. Bahaya! Menyebabkan iritasi kulit ringan. Dapat menyebabkan gejala alergi atau asma maupun kesulitan bernapas jika terhirup. Hindari menghirup debu/asap/gas/kabut/uap/semprotan. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah. Kenakan perlindungan pernapasan. Jika terpapar atau terkena: Hubungi PUSAT BANTUAN KERACUNAN atau dokter/medis. Bawa orang tersebut ke udara terbuka dan nyaman untuk bernapas. Buang isi/wadah ke tempat pembuangan limbah yang disetujui.

## Pembuangan

Limbah tersebut mengandung sampel dan reagen. Limbah tersebut dapat mengandung bahan beracun atau infeksius, dan harus dibuang dengan benar. Lihat peraturan keselamatan setempat untuk prosedur pembuangan yang tepat.

Untuk informasi lebih lanjut, periksalah lembar data keselamatan (Safety Data Sheets, SDS) yang sesuai. Lembar data keselamatan ini tersedia secara online dalam format PDF di [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) tempat Anda dapat menemukan, melihat, dan mencetak SDS untuk setiap komponen kit dan komponen QIAGEN.

# Penyimpanan dan Penanganan Reagen

Kolom QIAamp Mini harus disimpan di tempat kering pada suhu 2–8 °C. Semua dapar harus disimpan pada suhu ruang (15–25 °C). Kolom QIAamp Mini dan dapar dapat disimpan dalam kondisi ini hingga tanggal kedaluwarsa pada kotak kit dengan catatan tidak menunjukkan penurunan kinerja apa pun.

RNA pembawa liofilisasi harus disimpan pada suhu ruang (15–25 °C) hingga tanggal kedaluwarsa yang tertera pada label komponen. RNA Pembawa harus dilarutkan dalam Buffer AVE; RNA pembawa yang dilarutkan harus langsung ditambahkan ke Buffer ACL seperti yang dijelaskan pada halaman 30 untuk Protokol Breeze dan di halaman 35 untuk Protokol Klasik. Larutan ini harus disiapkan secara langsung (segar). Bagian RNA pembawa yang tidak terpakai yang dilarutkan dalam Buffer AVE harus dibekukan dalam alikuot pada suhu -30 °C hingga -15 °C.

QIAamp DSP Circulating NA Kit berisi larutan proteinase K siap pakai yang dilarutkan dalam dapar penyimpanan yang diformulasi secara khusus. proteinase K stabil hingga tanggal kedaluwarsa pada label komponen jika disimpan pada suhu ruang (15–25 °C).

## Stabilitas saat penggunaan

Kit dapat digunakan selama 12 bulan setelah penggunaan pertama atau hingga tanggal kedaluwarsa mana pun yang terjadi lebih dulu.

# Penyimpanan dan Penanganan Spesimen

## Penyimpanan dan penanganan darah

Untuk menghindari degradasi asam nukleat bebas sel dan pelepasan asam nukleat seluler, kami menyarankan penyimpanan darah utuh selama maksimum 6 jam pada suhu 2–8 °C (misalnya, sampel EDTA). Jika menggunakan tabung penampung darah yang distabilkan, harap pertimbangkan kondisi penyimpanan yang diberikan oleh produsen. Kami merekomendasikan untuk memvalidasi kondisi penyimpanan ini dengan mengkombinasikan bersama target dan aplikasi downstream spesifik Anda.

## Penyimpanan dan penanganan plasma

Disarankan untuk melakukan pemisahan plasma dan isolasi asam nukleat langsung setelah donor darah jika menggunakan EDTA sebagai antikoagulan, khususnya untuk RNA. Untuk penyimpanan jangka pendek, plasma dapat disimpan hingga 24 jam pada suhu 2–8 °C.

Untuk penyimpanan yang lebih lama, alikuot plasma dari tabung penampung darah yang distabilkan serta yang tidak distabilkan dapat disimpan pada suhu -20 °C atau -80 °C selama maksimum 12 bulan (hanya untuk DNA sebagai target) atau pada suhu -80 °C selama 4 minggu (RNA sebagai target).

## Menyimpan asam nukleat yang dielusi

Asam nukleat yang dielusi ditampung dalam tabung elusi 1,5 ml (disediakan). Asam nukleat yang beredar yang dimurnikan dapat disimpan selama maksimum 24 jam pada suhu 2–8 °C. Untuk periode penyimpanan lebih dari 24 jam, penyimpanan pada suhu -30 °C hingga -15 °C direkomendasikan untuk DNA dan -90 °C hingga -60 °C untuk aplikasi downstream RNA.

# Prosedur

## Poin penting sebelum memulai

### **QIAvac 24 Plus**

QIAvac 24 Plus dirancang untuk pemrosesan vakum yang cepat dan efisien pada 24 kolom putar QIAGEN secara paralel. Sampel dan larutan pencuci ditarik melalui membran kolom dengan vakum sebagai ganti dari sentrifugasi, yang memberikan kecepatan lebih besar dan efisiensi waktu praktik dalam prosedur pemurnian.

Dengan kombinasi bersama QIAvac Connecting System, QIAvac 24 Plus dapat digunakan sebagai sistem aliran (flow-through). Aliran sampel ditampung dalam botol limbah yang terpisah.

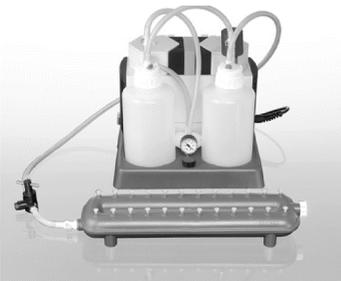
Untuk pemeliharaan QIAvac 24 Plus, baca panduan penanganan dalam *Buku Pegangan QIAvac 24 Plus*.

### **Pemrosesan kolom QIAamp Mini pada QIAvac 24 Plus**

Kolom QIAamp Mini diproses di QIAvac 24 Plus menggunakan VacConnectors sekali pakai dan VacValves yang dapat dipakai ulang. VacValves (opsional) dimasukkan langsung ke dalam slot suntikan manifold QIAvac 24 Plus dan memastikan laju aliran stabil, yang akan menunjang pemrosesan paralel berbagai volume sampel. Ini harus digunakan jika laju aliran sampel berbeda secara signifikan guna memastikan vakum yang konsisten. VacConnectors adalah konektor sekali pakai yang sesuai antara kolom QIAamp Mini dan VacValves atau antara kolom QIAamp Mini dan slot suntikan QIAvac 24 Plus. Ini mencegah kontak langsung antara kolom putar dan VacValve selama pemurnian, sehingga menghindari terjadinya kontaminasi silang di antara sampel. VacConnectors dibuang setelah sekali pakai. Karena besarnya volume larutan yang digunakan, QIAvac Connecting System (atau pengaturan serupa dengan botol limbah) diperlukan (lihat Gambar 2).

## Panduan penanganan untuk QIAvac 24 Plus

- Selalu letakkan QIAvac 24 Plus di area kerja atau atas meja yang aman. Jika terjatuh, manifold QIAvac 24 Plus dapat retak.
- Selalu simpan QIAvac 24 Plus dalam keadaan kering dan bersih. Untuk prosedur pembersihan, lihat *Buku Pegangan QIAvac 24 Plus*.
- Komponen QIAvac 24 Plus tidak tahan terhadap pelarut tertentu (Tabel 2). Jika pelarut ini tumpah pada unit, bilas secara menyeluruh dengan air.
- Untuk memastikan kinerja yang konsisten, jangan memberi silikon atau minyak vakum ke komponen manifold QIAvac 24 Plus apa pun.
- Selalu berhati-hatilah dan kenakan kacamata keselamatan saat bekerja di dekat manifold vakum yang berada dalam tekanan.
- Hubungi Layanan Teknis QIAGEN atau distributor lokal Anda untuk informasi mengenai suku cadang atau komponen pengganti.
- Tekanan vakum adalah tekanan diferensial antara bagian dalam manifold vakum dan atmosfer (tekanan atmosfer standar 1013 milibar atau 760 mm Hg) dan dapat diukur menggunakan QIAvac Connecting System (lihat Gambar 2). Protokol memerlukan pompa vakum yang mampu memproduksi vakum atau -800 hingga -900 mbar (misalnya, QIAGEN Vacuum Pump). Wajib untuk menghindari tekanan vakum yang lebih tinggi. Penggunaan tekanan vakum yang lebih rendah dari yang disarankan dapat menurunkan hasil asam nukleat dan kemurnian serta meningkatkan risiko membran tersumbat.



Gambar 2. QIAvac 24 Plus, QIAvac Connecting System, dan Vacuum Pump.

Tabel 2. Properti resistensi bahan kimia QIAvac 24 Plus

Tahan terhadap		Tidak tahan terhadap
Asam asetat	Garam kaotropik	Benzena
Asam kromat	Alkohol terkonsentrasi	Fenol
SDS	Natrium klorida	Kloroform
Tween™ 20	Urea	Toluen
Pemutih klorin	Asam hidroklorit	Eter
Natrium hidroksida		

## Pengaturan QIAvac 24 Plus vacuum manifold

1. Hubungkan QIAvac 24 Plus ke sumber vakum. Jika menggunakan QIAvac Connecting System, hubungkan sistem ke manifold dan sumber vakum seperti yang dijelaskan dalam Lampiran A *Buku Pegangan QIAvac 24 Plus*.
2. Masukkan VacValve (opsional) ke masing-masing slot suntikan QIAvac 24 Plus yang akan digunakan (lihat Gambar 3). Tutup slot suntikan yang tidak digunakan dengan sumbat suntikan atau tutup VacValve yang dimasukkan.  
VacValves harus digunakan jika laju aliran sampel berbeda secara signifikan guna memastikan vakum yang konsisten.
3. Masukkan VacConnector ke dalam masing-masing VacValve (lihat Gambar 3).  
Lakukan langkah ini secara langsung sebelum memulai pemurnian untuk menghindari paparan VacConnectors terhadap potensi kontaminan di udara.
4. Letakkan kolom QIAamp Mini dalam VacConnectors pada manifold (lihat Gambar 3).  
**Catatan:** Simpan tabung pencucian dari kemasan blister untuk digunakan dalam protokol pemurnian.
5. Masukkan ekstensi kolom (20 ml) ke dalam masing-masing kolom QIAamp Mini (lihat Gambar 3).  
**Catatan:** Pastikan ekstensi kolom dimasukkan dengan kuat ke dalam kolom QIAamp Mini untuk menghindari kebocoran sampel.

6. Untuk pemurnian asam nukleat, ikuti petunjuk dalam protokol. Buang VacConnectors dengan benar setelah penggunaan.

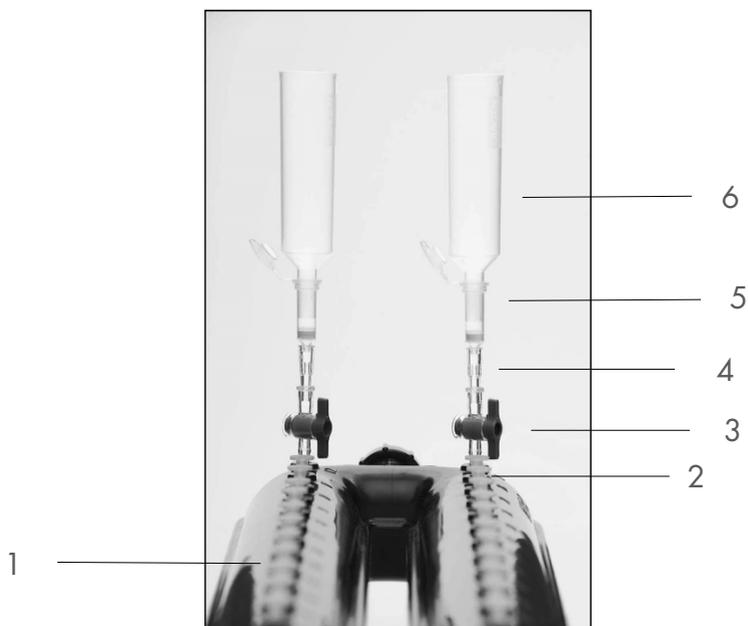
Biarkan penutup kolom QIAamp Mini terbuka saat menerapkan vakum.

Matikan vakum di antara langkah-langkah guna memastikan vakum yang konsisten dan merata selama pemrosesan. Untuk pelepasan vakum yang lebih cepat, Vacuum Regulator harus digunakan (komponen QIAvac Connecting System).

**Catatan:** Masing-masing VacValve dapat ditutup secara terpisah saat sampel benar-benar ditarik melalui kolom putar, memungkinkan pemrosesan paralel sampel dengan berbagai volume atau viskositas.

7. Setelah memproses sampel, bersihkan QIAvac 24 Plus (lihat "Pembersihan dan Dekontaminasi QIAvac 24 Plus" dalam *Buku Pegangan QIAvac 24 Plus*).

**Catatan:** Buffer ACL, ACB, dan ACW1 tidak kompatibel dengan agen desinfeksi yang mengandung pemutih. Lihat halaman 14 untuk Peringatan dan Pencegahan.

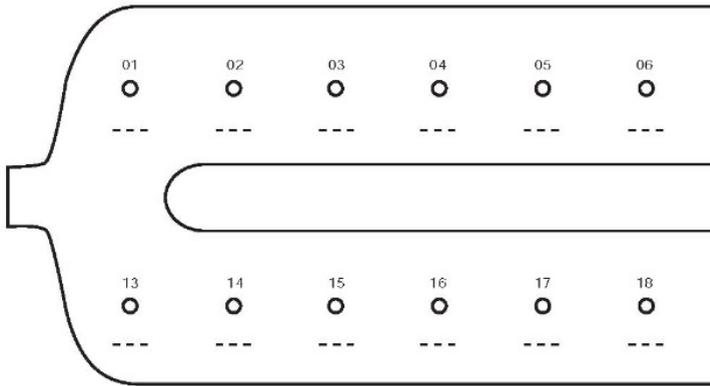


Gambar 3. Mengatur QIAvac 24 Plus dengan kolom QIAamp Mini menggunakan VacValves, VacConnectors, dan Ekstensi Kolom.

- |          |  |          |                   |
|----------|--|----------|-------------------|
| <b>1</b> | QIAvac 24 Plus vacuum manifold                                 | <b>4</b> | VacConnector      |
| <b>2</b> | Slot suntikan QIAvac 24 Plus (tertutup dengan sumbat suntikan) | <b>5</b> | Kolom QIAamp Mini |
| <b>3</b> | VacValve*  | <b>6</b> | Ekstensi Kolom    |

Kami menyarankan untuk melabeli tabung dan kolom QIAamp Mini untuk digunakan pada sistem vakum QIAvac 24 Plus sesuai dengan skema dalam Gambar 4 untuk menghindari tercampurnya sampel. Gambar ini dapat difotokopi dan dilabeli dengan nama sampel.

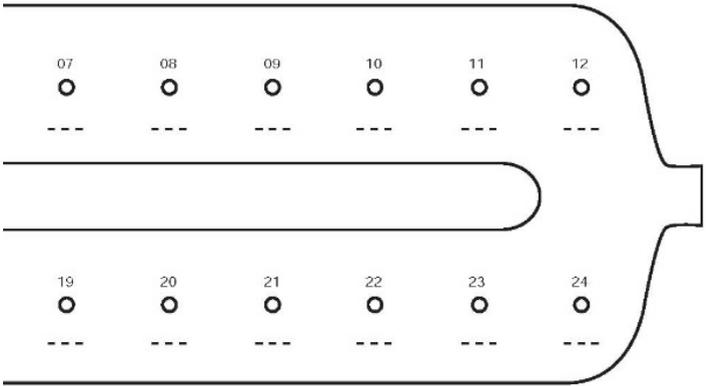
\* Harus dibeli secara terpisah.



Tanggal: \_\_\_\_\_

Operator: \_\_\_\_\_

ID Pelaksanaan: \_\_\_\_\_



Gambar 4. Skema pelabelan untuk tabung dan kolom QIAamp Mini untuk digunakan pada sistem vakum QIAvac 24 Plus.

# Penyiapan Dapar dan Reagen

## Buffer ACB

Sebelum penggunaan, tambahkan 200 ml isopropanol (100%) ke dalam 300 ml konsentrat Buffer ACB untuk memperoleh 500 ml Buffer ACB. Campur hingga merata setelah menambahkan isopropanol.

## Buffer ACW1 \*

Sebelum penggunaan, tambahkan 25 ml etanol (96–100%) ke dalam 19 ml konsentrat Buffer ACW1 untuk memperoleh 44 ml Buffer ACW1. Campur hingga merata setelah menambahkan etanol.

## Buffer ACW2<sup>†</sup>

Sebelum penggunaan, tambahkan 30 ml etanol (96–100%) ke dalam 13 ml konsentrat Buffer ACW2 untuk memperoleh 43 ml Buffer ACW2. Campur hingga merata setelah menambahkan etanol.

## Menambahkan RNA pembawa ke Buffer ACL\*

RNA pembawa memiliki 2 tujuan: pertama, meningkatkan pengikatan asam nukleat pada membran QIAamp Mini, khususnya jika molekul target dalam sampel sangat sedikit. Kedua, penambahan banyak RNA pembawa menurunkan peluang degradasi RNA di kejadian langka bahwa molekul RNase akan lolos dari denaturasi bersama garam kaotropik dan detergen dalam Buffer ACL.

\* Mengandung garam kaotropik. Lihat halaman 14 untuk Warnings and Precautions.

<sup>†</sup> Mengandung natrium azida sebagai bahan pengawet.

Jumlah RNA pembawa yang diliofilisasi yang disediakan cukup untuk volume Buffer ACL yang disediakan bersama kit. Konsentrasi RNA pembawa yang direkomendasikan telah disesuaikan agar protokol QIAamp DSP Circulating NA dapat digunakan sebagai sistem pemurnian generik yang kompatibel dengan berbagai sistem amplifikasi dan sesuai untuk bermacam-macam target RNA dan DNA.

Sistem amplifikasi yang berbeda beragam dalam hal efisiensinya bergantung pada total jumlah asam nukleat yang terdapat dalam reaksi. Eluat dalam kit mengandung asam nukleat yang beredar dan RNA pembawa, dan jumlah RNA pembawa akan sangat melebihi jumlah asam nukleat yang beredar di sebagian besar kasus. Sehingga, jumlah asam nukleat yang beredar yang terisolasi dengan pembacaan penyerapan UV tidak akan mencukupi, karena hasil pengukuran tersebut ditentukan oleh adanya RNA pembawa.

Untuk memperoleh tingkat sensitivitas tertinggi dalam reaksi amplifikasi, mungkin perlu untuk mengurangi jumlah RNA pembawa yang ditambahkan ke Buffer ACL.

Untuk sistem amplifikasi yang melibatkan primer oligo dT, tidak boleh ada RNA pembawa yang ditambahkan selama isolasi asam nukleat yang beredar bebas.

Tambahkan 1550  $\mu$ l Buffer AVE\* ke tabung yang berisi 310  $\mu$ g RNA pembawa yang terliofilisasi untuk memperoleh larutan konsentrasi 0,2  $\mu$ g/ $\mu$ l. Larutkan RNA pembawa hingga merata, bagi ke dalam alikot berukuran lebih kecil, dan simpan pada suhu -30 °C hingga -15 °C. Jangan lakukan proses beku-cair pada alikot RNA pembawa berulang kali.

Perlu diperhatikan bahwa RNA pembawa tidak larut dalam Buffer ACL. Ini harus dilarutkan terlebih dahulu dalam Buffer AVE kemudian ditambahkan ke Buffer ACL.

\*Mengandung natrium azida sebagai bahan pengawet.

Hitung volume campuran Buffer ACL-RNA pembawa yang diperlukan per batch sampel sesuai dengan tabel dalam protokol. Pilih jumlah sampel untuk diproses secara bersamaan.

Campurkan perlahan dengan membalikkan tabung atau botol 10 kali. Untuk menghindari adanya buih, jangan lakukan proses vorteks.

**Catatan:** Prosedur penyiapan sampel dioptimalkan untuk maksimum 1,0 µg RNA pembawa per sampel. Jika RNA pembawa yang lebih sedikit terbukti lebih baik bagi sistem amplifikasi Anda, cukup transfer sejumlah RNA pembawa yang dilarutkan yang diperlukan ke tabung yang berisi Buffer ACL. Untuk setiap mikrogram RNA pembawa yang diperlukan per penyiapan, tambahkan 5 µl RNA pembawa yang dilarutkan ke Buffer ACL. (Penggunaan kurang dari 1,0 µg RNA pembawa per sampel dapat menguntungkan dan harus divalidasi untuk setiap tipe sampel uji kadar downstream tertentu.)

# Protokol Breeze: Pemurnian Asam Nukleat yang Beredar dari 1–5 ml Plasma Darah Manusia

Protokol ini adalah untuk pemurnian DNA dan RNA yang beredar dari 1–5 ml plasma darah manusia dan telah dioptimalkan untuk waktu praktik dan penyelesaian yang singkat. Untuk alur kerja yang divalidasi pengguna yang sudah ada yang menggunakan QIAamp DSP Circulating NA Kit versi 1/R3, silakan baca “Protokol Klasik: Pemurnian Asam Nukleat yang Beredar dari 1–5 ml Plasma Darah Manusia” (halaman 34).

## Poin penting sebelum memulai

- Semua langkah sentrifugasi dilakukan dalam suhu ruang (15–25 °C).
- Matikan vakum di antara langkah-langkah guna memastikan vakum yang konsisten dan merata selama langkah-langkah protokol.  
**Catatan:** Tekanan Vacuum Pump harus di antara -800 dan -900 mbar.
- Setimbangkan sampel ke suhu ruang.
- Gunakan PBS untuk menjadikan volume sampel menjadi volume tepat yang terdekat (1 hingga 5 ml).
- Atur QIAvac 24 Plus seperti yang diuraikan pada halaman 21.
- Panaskan penangas air atau blok pemanas hingga 56 °C untuk digunakan dengan tabung sentrifugasi 50 ml dalam langkah 3.
- Setimbangkan kolom putar QIAamp Mini selama minimum 1 jam hingga suhu ruang sebelum digunakan.
- Pastikan Buffer ACB, Buffer ACW1, dan Buffer ACW2 telah disiapkan (penambahan isopropanol atau etanol) sesuai dengan petunjuk di halaman 26.
- Tambahkan RNA pembawa yang direkonstitusi dalam Buffer AVE ke Buffer ACL sesuai dengan petunjuk dalam Tabel 3.

**Tabel 3. Volume Buffer ACL dan RNA pembawa (yang dilarutkan dalam Buffer AVE) yang diperlukan untuk pemrosesan 1–5 ml sampel plasma darah manusia**

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

## Prosedur: Protokol Breeze

1. Pipet QIAGEN Proteinase K, plasma, dan Buffer ACL **dalam urutan ini** ke dalam tabung sentrifugasi 50 ml (tidak disediakan).

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

2. Tutup penutup dan campurkan dengan vorteks-denyut selama 5 x 2 dtk.

Pastikan bahwa vorteks yang terlihat terbentuk dalam tabung. Untuk memastikan lisis yang efisien, penting bahwa sampel dan Buffer ACL dicampur secara merata untuk menghasilkan larutan yang homogen.

**Catatan:** Jangan mengganggu prosedur di saat ini. Langsung lanjutkan ke langkah 3 untuk memulai inkubasi lisis.

3. Inkubasi pada suhu 56 °C ( $\pm 1$  °C) selama 15 ( $\pm 1$ ) mnt.
4. Letakkan kembali tabung ke meja lab dan lepaskan sekrup tutup.
5. Tambahkan Buffer ACB pada lisat dalam tabung. Pilih volume sesuai dengan pengaturan dari langkah 1.

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

6. Tutup penutup dan campurkan secara merata dengan vorteks-denyut selama 5 x 2 dtk.  
Pastikan bahwa vorteks yang terlihat terbentuk dalam tabung. Untuk memastikan lisis yang efisien, penting bahwa lisat dan Buffer ACB dicampur secara merata untuk menghasilkan larutan yang homogen.
7. Inkubasi campuran lisat-Buffer ACB dalam tabung selama 5 ( $\pm 1$ ) mnt pada suhu ruang.

- Masukkan kolom QIAamp Mini ke dalam VacConnector pada QIAvac 24 Plus (lihat “Pengaturan QIAvac 24 Plus vacuum manifold”, halaman 21). Masukkan 20 ml ekstensi kolom ke dalam kolom QIAamp Mini yang terbuka.

Pastikan ekstensi kolom dimasukkan dengan kuat ke dalam kolom QIAamp Mini untuk menghindari kebocoran sampel.

**Catatan:** Simpan tabung pencucian untuk pemutaran kering dalam langkah 13.

- Berikan lisat secara hati-hati dari langkah 7 ke dalam ekstensi kolom di kolom QIAamp Mini. Nyalakan pompa vakum. Jika semua lisat telah ditarik sepenuhnya melalui kolom, matikan pompa vakum dan lepaskan tekanan ke 0 mbar. Lepaskan secara hati-hati dan buang ekstensi kolom.

Perlu diperhatikan bahwa volume lisat sampel yang besar (sktr. 18 ml saat memulai dengan 5 ml sampel) mungkin membutuhkan waktu hingga 20 mnt untuk lolos melewati membran QIAamp Mini dengan kekuatan vakum.

Untuk pelepasan tekanan vakum yang cepat dan mudah, Vacuum Regulator harus digunakan (komponen QIAvac Connecting System).

**Catatan:** Untuk menghindari kontaminasi silang, berhati-hatilah untuk tidak melintangkan (cross-neighbor) kolom QIAamp Mini saat ekstensi kolom dilepaskan.

- Masukkan 600  $\mu$ l Buffer ACW1 ke kolom QIAamp Mini. Biarkan penutup kolom terbuka dan nyalakan pompa vakum. Setelah semua Buffer ACW1 telah ditarik sepenuhnya melalui kolom QIAamp Mini, matikan pompa vaum dan lepaskan tekanan ke 0 mbar.
- Masukkan 750  $\mu$ l Buffer ACW2 ke kolom QIAamp Mini. Biarkan penutup kolom terbuka, dan nyalakan pompa vakum. Setelah semua Buffer ACW2 telah ditarik sepenuhnya melalui kolom QIAamp Mini, matikan pompa vakum dan lepaskan tekanan ke 0 mbar.
- Masukkan 750  $\mu$ l etanol (96–100%) ke kolom QIAamp Mini. Biarkan penutup kolom terbuka dan nyalakan pompa vakum. Setelah semua etanol telah ditarik sepenuhnya melalui kolom putar, matikan pompa vakum dan lepaskan tekanan ke 0 mbar.

13. Tutup penutup kolom QIAamp Mini. Lepaskan dari manifold vakum, dan buang VacConnector. Letakkan kolom QIAamp Mini dalam tabung pencucian 2 ml yang bersih (dari langkah 8), dan sentrifugasi pada kecepatan penuh (20.000 x g; 14.000 rpm) selama 3 ( $\pm 0,5$ ) mnt.
14. Letakkan kolom QIAamp Mini ke dalam tabung pencucian 2 ml baru. Buka penutup dan inkubasi rakitan pada suhu ruang selama 3 mnt agar membran benar-benar kering.
15. Letakkan kolom QIAamp Mini dalam tabung elusi 1,5 ml yang bersih (disediakan) dan buang tabung pencucian 2 ml dari langkah 14. Berhati-hatilah memasukkan 20–150  $\mu$ l Buffer AVE ke bagian tengah membran kolom QIAamp Mini. Tutup penutup dan inkubasi pada suhu ruang selama 3 ( $\pm 0,5$ ) mnt.

**Penting:** Pastikan Buffer AVE elusi telah disetimbangkan ke suhu ruang (15–25 °C). Jika elusi dilakukan dalam volume kecil (<50  $\mu$ l), dapat elusi harus disalurkan di bagian tengah membran untuk elusi lengkap asam nukleat yang terikat.

Volume elusi bersifat fleksibel dan dapat disesuaikan sesuai dengan kebutuhan aplikasi downstream.

Elusi dengan volume Buffer AVE yang lebih kecil menyebabkan konsentrasi asam nukleat yang lebih tinggi namun dapat menghasilkan total hasil yang lebih rendah.

Volume eluat yang dipulihkan adalah maksimal 5  $\mu$ l di bawah volume elusi yang diterapkan pada membran kolom QIAamp Mini.

**Catatan:** Untuk hasil NA rendah yang diharapkan, penggunaan tabung Pengikatan-rendah direkomendasikan untuk elusi (tidak disediakan).

16. Lakukan sentrifugasi dalam mikrosentrifugasi pada kecepatan penuh (20.000 x g; 14.000 rpm) selama 1 menit untuk mengelusi asam nukleat.

**Catatan:** Hadapkan penutup tabung elusi sehingga menunjuk ke arah berkebalikan dari rotasi rotor (misalnya, jika rotor berputar searah jarum jam, hadapkan penutup melawan arah jarum jam).

# Protokol Klasik: Pemurnian Asam Nukleat yang Beredar dari 1–5 ml Plasma Darah Manusia

Protokol ini terdiri dari protokol yang tidak berubah dari *Buku Pegangan QIAamp DSP Circulating NA Kit*, Revisi 3 (R3), untuk digunakan dengan, misalnya, alur kerja yang divalidasi pengguna yang sudah ada untuk 1–5 ml plasma manusia.

## Poin penting sebelum memulai

- Semua langkah sentrifugasi dilakukan dalam suhu ruang (15–25 °C).
- Matikan vakum di antara langkah-langkah guna memastikan vakum yang konsisten dan merata selama langkah-langkah protokol.  
**Catatan:** Tekanan Vacuum Pump harus di antara -800 dan -900 mbar.
- Setimbangkan sampel ke suhu ruang.
- Gunakan PBS untuk menjadikan volume sampel menjadi volume tepat yang terdekat (1 hingga 5 ml).
- Atur QIAvac 24 Plus seperti yang diuraikan pada halaman 21.
- Panaskan penangas air atau blok pemanas hingga 60 °C untuk digunakan dengan tabung sentrifugasi 50 ml dalam langkah 3.
- Panaskan blok pemanas hingga 56 °C untuk digunakan dengan tabung pencucian 2 ml dalam langkah 14.
- Setimbangkan kolom putar QIAamp Mini selama minimum 1 jam hingga suhu ruang sebelum digunakan.
- Pastikan Buffer ACB, Buffer ACW1, dan Buffer ACW2 telah disiapkan (penambahan isopropanol atau etanol) sesuai dengan petunjuk di halaman 26.
- Tambahkan RNA pembawa yang direkonstitusi dalam Buffer AVE ke Buffer ACL sesuai dengan petunjuk dalam Tabel 4.

Tabel 4. Volume Buffer ACL dan RNA pembawa (yang dilarutkan dalam Buffer AVE) yang diperlukan untuk pemrosesan 1–5 ml sampel plasma darah manusia

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

## Prosedur: Protokol Klasik

1. Pipet QIAGEN Proteinase K, plasma, dan Buffer ACL dalam urutan ini ke dalam tabung sentrifugasi 50 ml (tidak disediakan).

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

2. Tutup penutup dan campurkan dengan vorteks-denyut selama 30 dtk.

Pastikan bahwa vorteks yang terlihat terbentuk dalam tabung. Untuk memastikan lisis yang efisien, penting bahwa sampel dan Buffer ACL dicampur secara merata untuk menghasilkan larutan yang homogen.

**Catatan:** Jangan mengganggu prosedur di saat ini. Langsung lanjutkan ke langkah 3 untuk memulai inkubasi lisis.

3. Inkubasi pada suhu 60 °C ( $\pm 1$  °C) selama 30 ( $\pm 2$ ) mnt.
4. Letakkan kembali tabung ke meja lab dan lepaskan sekrup tutup.
5. Tambahkan Buffer ACB pada lisat dalam tabung. Pilih volume sesuai dengan pengaturan dari langkah 1.

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

6. Tutup penutup dan campurkan secara merata dengan vorteks-denyut selama 30 dtk.  
Pastikan bahwa vorteks yang terlihat terbentuk dalam tabung. Untuk memastikan lisis yang efisien, penting bahwa lisat dan Buffer ACB dicampur secara merata untuk menghasilkan larutan yang homogen.
7. Inkubasi campuran lisat-Buffer ACB dalam tabung selama 5 ( $\pm 1$ ) mnt pada es.

- Masukkan kolom QIAamp Mini ke dalam VacConnector pada QIAvac 24 Plus (lihat "Pengaturan QIAvac 24 Plus vacuum manifold", halaman 21). Masukkan 20 ml ekstensi kolom ke dalam kolom QIAamp Mini yang terbuka.

Pastikan ekstensi kolom dimasukkan dengan kuat ke dalam kolom QIAamp Mini untuk menghindari kebocoran sampel.

**Catatan:** Simpan tabung pencucian untuk pemutaran kering dalam langkah 13.

- Berikan lisat secara hati-hati dari langkah 7 ke dalam ekstensi kolom di kolom QIAamp Mini. Nyalakan pompa vakum yang menerapkan tekanan sebesar -800 hingga -900 mbar. Jika semua lisat telah ditarik sepenuhnya melalui kolom, matikan pompa vakum dan lepaskan tekanan ke 0 mbar. Lepaskan secara hati-hati dan buang ekstensi kolom.

Perlu diperhatikan bahwa volume lisat sampel yang besar (sktr. 18 ml saat memulai dengan 5 ml sampel) mungkin membutuhkan waktu hingga 20 mnt untuk lolos melewati membran QIAamp Mini dengan kekuatan vakum.

Untuk pelepasan tekanan vakum yang cepat dan mudah, Vacuum Regulator harus digunakan (komponen QIAvac Connecting System).

**Catatan:** Untuk menghindari kontaminasi silang, berhati-hatilah untuk tidak melintangkan (cross-neighbor) kolom QIAamp Mini saat ekstensi kolom dilepaskan.

- Masukkan 600  $\mu$ l Buffer ACW1 ke kolom QIAamp Mini. Biarkan penutup kolom terbuka, dan nyalakan pompa vakum. Setelah semua Buffer ACW1 telah ditarik sepenuhnya melalui kolom QIAamp Mini, matikan pompa vakum dan lepaskan tekanan ke 0 mbar.
- Masukkan 750  $\mu$ l Buffer ACW2 ke kolom QIAamp Mini. Biarkan penutup kolom terbuka, dan nyalakan pompa vakum. Setelah semua Buffer ACW2 telah ditarik sepenuhnya melalui kolom QIAamp Mini, matikan pompa vakum dan lepaskan tekanan ke 0 mbar.
- Masukkan 750  $\mu$ l etanol (96–100%) ke kolom QIAamp Mini. Biarkan penutup kolom terbuka, dan nyalakan pompa vakuum. Setelah semua etanol telah ditarik sepenuhnya melalui kolom putar, matikan pompa vakum dan lepaskan tekanan ke 0 mbar.

13. Tutup penutup kolom QIAamp Mini. Lepaskan dari manifold vakum dan buang VacConnector. Letakkan kolom QIAamp Mini dalam tabung pencucian 2 ml yang bersih (dari langkah 8), dan sentrifugasi pada kecepatan penuh (20.000 x g; 14.000 rpm) selama 3 ( $\pm 0,5$ ) mnt.
14. Letakkan kolom QIAamp Mini ke dalam tabung pencucian 2 ml baru. Buka penutup dan inkubasi rakitan pada suhu 56 °C ( $\pm 1$  °C) selama 10 ( $\pm 1$ ) mnt agar membran benar-benar kering.
15. Letakkan kolom QIAamp Mini dalam tabung elusi 1,5 ml yang bersih (disediakan) dan buang tabung pencucian 2 ml dari langkah 13. Berhati-hatilah memasukkan 20–150  $\mu$ l Buffer AVE ke bagian tengah membran kolom QIAamp Mini. Tutup penutup dan inkubasi pada suhu ruang selama 3 ( $\pm 0,5$ ) mnt.

**Penting:** Pastikan Buffer AVE elusi telah disetimbangkan ke suhu ruang (15–25 °C). Jika elusi dilakukan dalam volume kecil (<50  $\mu$ l), dapar elusi harus disalurkan di bagian tengah membran untuk elusi lengkap asam nukleat yang terikat.

Volume elusi bersifat fleksibel dan dapat disesuaikan sesuai dengan kebutuhan aplikasi downstream.

Elusi dengan volume Buffer AVE yang lebih kecil menyebabkan konsentrasi asam nukleat yang lebih tinggi, namun dapat menghasilkan total hasil yang lebih rendah.

Volume eluat yang dipulihkan adalah maksimal 5  $\mu$ l di bawah volume elusi yang diterapkan pada kolom QIAamp Mini.

**Catatan:** Untuk hasil NA rendah yang diharapkan, penggunaan tabung pengikatan-rendah direkomendasikan untuk elusi (tidak disediakan).

16. Lakukan sentrifugasi dalam mikrosentrifugasi pada kecepatan penuh (20.000 x g; 14.000 rpm) selama 1 menit untuk mengelusi asam nukleat.

**Catatan:** Hadapkan penutup tabung elusi sehingga menunjuk ke arah berkebalikan dari rotasi rotor (misalnya, jika rotor berputar searah jarum jam, hadapkan penutup melawan arah jarum jam).

# Pengendalian Mutu

Sesuai dengan Sistem Manajemen Mutu QIAGEN yang bersertifikat ISO, setiap lot QIAamp DSP Circulating NA Kit diuji terhadap spesifikasi yang telah ditentukan untuk memastikan kualitas produk yang konsisten.

## Batasan

Kinerja sistem untuk isolasi asam nukleat bebas sel yang beredar telah ditetapkan menggunakan sampel plasma manusia yang dihasilkan dari Tabung Penampung Darah berikut:

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

Pengguna bertanggung jawab untuk memvalidasi kinerja sistem bagi setiap prosedur yang digunakan dalam laboratorium mereka, yang tidak dicakup oleh studi kinerja QIAGEN.

Untuk meminimalkan risiko dampak negatif hasil diagnostik, kendali yang memadai untuk penggunaan hilir harus digunakan. Untuk validasi lebih lanjut, panduan International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) dalam ICH Q2(R1) Validation of Analytical Procedures: Test And Methodology disarankan untuk digunakan.

Segala hasil diagnostik yang dihasilkan harus dimaknai sesuai dengan temuan klinis atau laboratorium lainnya.

# Karakteristik Kinerja

Karakteristik kinerja yang berlaku dapat ditemukan pada tab sumber daya dari halaman produk di [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Referensi

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

# Panduan Pemecahan Masalah

Panduan pemecahan masalah dapat membantu menyelesaikan masalah yang muncul. Untuk informasi selengkapnya, lihat juga halaman Pertanyaan Umum (Frequently Asked Questions, FAQ) di Pusat Dukungan Teknis kami: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Ilmuwan di Layanan Teknis QIAGEN selalu senang menjawab setiap pertanyaan yang Anda ajukan terkait informasi dan/atau protokol dalam buku pegangan ini atau teknologi uji kadar dan sampel (untuk informasi kontak, hubungi [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Komentar dan saran

### Asam nukleat sedikit atau tidak ada dalam eluat

- |    |  |   |
|----|--|---|
| a) | Penggunaan plasma yang tidak distabilkan                         | Sampel plasma yang tidak distabilkan dapat menyebabkan percepatan degradasi DNA. Kami menyarankan untuk mengikuti CEN/TS 16835-3:2015. Ulangi prosedur pemurnian dengan sampel baru.  |
| b) | Perpanjangan waktu antara pengambilan darah dan penyiapan plasma | Sel darah nuklease dapat tidak terintegrasi dan melepaskan DNA genomik ke dalam plasma, yang mengencerkan asam nukleat target.  |
| c) | Sampel dibekukan dan dicairkan lebih dari sekali                 | Pencairan dan pembekuan berulang harus dihindari karena hal ini dapat menyebabkan degradasi DNA. Selalu gunakan sampel segar atau sampel yang dicairkan hanya sekali.   |
| d) | Konsentrasi rendah DNA target dalam sampel                       | Sampel plasma dibiarkan terlalu lama dalam suhu ruang. Ulangi prosedur pemurnian dengan sampel baru<br><b>Catatan:</b> Beberapa individu mungkin memiliki konsentrasi NA bebas sel yang rendah dalam plasma; di sini, peningkatan volume sampel dan volume eluat yang rendah harus dipilih. |
| e) | Lisis sampel tidak efisien dalam Buffer ACL                      | Jika QIAGEN Proteinase K mengalami peningkatan suhu selama waktu yang lebih lama, ini dapat kehilangan aktivitas. Ulangi prosedur menggunakan sampel baru dan QIAGEN Proteinase K segar.  |
| f) | Campuran Buffer ACL–RNA pembawa tidak tercampur dengan benar     | Campurkan Buffer ACL dengan RNA pembawa dengan membalikkan perlahan tabung Buffer ACL–RNA pembawa minimum 10 kali.  |
| g) | Penggunaan etanol dengan persentase rendah, dan bukan 96–100%    | Ulangi prosedur pemurnian dengan sampel baru dan etanol 96–100%. Jangan gunakan alkohol denaturasi, yang mengandung bahan lain seperti metanol atau metiletilketon.   |
| h) | Buffer ACB disiapkan dengan tidak benar                          | Periksa apakah konsentrat Buffer ACB direkonstitusi dengan volume isopropanol yang benar (bukan etanol, lihat halaman 26).  |

### Komentar dan saran

- |    |   |   |
|----|---|---|
| i) | Buffer ACW1 atau Buffer ACW2 disiapkan dengan tidak benar | Periksa apakah konsentrasi Buffer ACW1 dan Buffer ACW2 diencerkan dengan volume etanol yang benar (lihat halaman 26). Ulangi prosedur pemurnian dengan sampel baru. |
| j) | Buffer ACW1 atau Buffer ACW2 disiapkan dengan etanol 70%  | Periksa apakah konsentrasi Buffer ACW1 dan Buffer ACW2 diencerkan dengan etanol 96–100% (lihat halaman 26). Ulangi prosedur pemurnian dengan sampel baru.           |

### DNA atau RNA tidak bekerja dengan benar dalam reaksi enzimatik downstream

- |    |  |  |
|----|--|--|
| a) | DNA sedikit atau tidak ada dalam eluat   | Lihat “Asam nukleat sedikit atau tidak ada dalam eluat” di atas untuk kemungkinan alasannya. Tingkatkan jumlah eluat yang ditambahkan ke reaksi jika memungkinkan.   |
| b) | Volume elusi yang digunakan tidak sesuai | Tentukan volume maksimum eluat yang sesuai untuk aplikasi downstream Anda. Kurangi atau tingkatkan volume eluat yang ditambahkan ke aplikasi downstream. Volume elusi dapat disesuaikan secara proporsional.<br><b>Catatan:</b> Elusi dengan volume Buffer AVE yang lebih kecil menyebabkan konsentrasi asam nukleat yang lebih tinggi namun dapat menghasilkan total hasil yang lebih rendah. |
| c) | Dapar tidak tercampur secara merata      | Komponen garam dan etanol dari Buffer ACW2 pencucian mungkin terpisah setelah dibiarkan terlalu lama dalam periode di antara proses. Selalu campurkan dapar secara merata sebelum setiap proses.   |
| d) | Gangguan karena RNA pembawa              | Jika adanya RNA pembawa dalam eluat mengganggu reaksi enzimatik downstream, mungkin perlu untuk mengurangi jumlah RNA pembawa atau menghilangkannya sekaligus.   |

### Penanganan umum

- |    |                             |   |
|----|-----------------------------|---|
| a) | Kolom QIAamp Mini tersumbat | <p>Jika laju aliran berkurang, waktu vakum dapat menjadi lebih lama. Sebagai gantinya, tutup VacValve, jika digunakan, dan lepaskan secara hati-hati rakitan ekstensi kolom–VacConnector–VacValve dari kolom QIAamp Mini tanpa menghilangkan lisat apa pun dalam ekstensi kolom.</p> <p>Lepaskan kolom QIAamp Mini dari manifold vakum, letakkan dalam tabung pencucian 2 ml dan putar pada kecepatan penuh hingga sampel benar-benar lolos melewati membran. Ganti rakitan ekstensi kolom–VacConnector–VacValve yang berisi sisa lisat. Nyalakan pompa vakum, buka VacValve, dan lanjutkan memuat sisa lisat.</p> <p>Ulangi prosedur di atas jika Kolom QIAamp Mini masih tersumbat. Kriopresipitat mungkin telah terbentuk dalam plasma karena pembekuan dan pencairan berulang. Ini dapat menyumbat kolom QIAamp Mini. Jangan gunakan plasma yang telah dibekukan dan dicairkan lebih dari sekali.</p> <p>Apabila terlihat adanya kriopresipitat, bersihkan sampel dengan sentrifugasi selama 5 mnt pada 16.000 x g.</p> |
|----|-----------------------------|---|

#### Komentar dan saran

- |   |   |
|---|---|
| b) Volume elusi beragam                                       | Sampel yang berbeda dapat memengaruhi volume eluat akhir. Volume eluat yang dipulihkan adalah maksimal 5 µl di bawah volume elusi yang diterapkan pada kolom QIAamp Mini.   |
| c) Tekanan vakum sebesar -800 hingga -900 mbar tidak tercapai | <p>Manifold vakum tidak tertutup rapat. Tekan penutup manifold vakum setelah vakum dinyalakan. Periksa apakah tekanan vakum tercapai.</p> <p>Gasket penutup QIAvac sudah usang. Periksa segel manifold dan ganti bila perlu.</p> <p>VacValves sudah usang. Lepaskan semua VacValves dan masukkan VacConnectors langsung ke dalam ekstensi suntikan. Masukkan kolom QIAamp Mini ke dalam VacConnectors, tutup penutup kolom, dan nyalakan vakum. Periksa apakah tekanan vakum tercapai. Ganti VacValves bila perlu.</p> <p>Sambungan ke pompa vakum bocor. Tutup semua ekstensi suntikan dengan tutup suntikan dan nyalakan pompa vakum. Periksa apakah tekanan vakum stabil setelah pompa dinyalakan (dan katup Vacuum Regulator tertutup). Tukar sambungan antara pompa dan manifold vakum bila perlu.</p> <p>Jika tekanan vakum masih belum tercapai, ganti pompa vakum dengan yang lebih kuat.</p> |

# Simbol

Simbol berikut ini terdapat di petunjuk penggunaan atau pada kemasan dan label:

Simbol	Definisi simbol
 $\Sigma$ <N>	Berisi reagen yang cukup untuk reaksi <N>
	Gunakan sebelum
	Produk ini memenuhi persyaratan Peraturan Eropa 2017/746 untuk perangkat medis diagnostik in vitro.
	Perangkat medis diagnostik in vitro
	Nomor katalog
	Nomor lot
	Nomor materi (yaitu, pelabelan komponen)
	Komponen
	Mengandung
	Nomor
	Nomor Barang Perdagangan Global (Global Trade Item Number, GTIN)

## Simbol

## Definisi simbol

Rn	R adalah untuk revisi Instruksi Penggunaan dan n adalah nomor revisi
	Batas suhu
	Produsen
	Baca petunjuk penggunaan
	Jauhkan dari sinar matahari
	Peringatan/perhatian
	Saat kedatangan
	Buka saat pengiriman; simpan Kolom putar QIAamp Mini pada suhu 2–8 °C
	Volume
	Menambahkan

## Simbol

## Definisi simbol



Tulis tanggal saat ini setelah menambahkan etanol ke dalam botol

**EtOH**

Etanol



Tulis tanggal saat ini setelah menambahkan isopropanol ke dalam botol

**IPA**

Isopropanol

→

Menghasilkan

**GITC**

Guanidina tiosianat

**GuHCl**

Guanidina hidroklorida

**BRIJ 58**

BRIJ 58

**PROTK**

Proteinase K

**UDI**

Pengidentifikasi unik perangkat

# Lampiran A: Rekomendasi untuk Pemisahan dan Penyimpanan Plasma Darah

Untuk tabung penampung darah stabilisasi (misalnya, PAXgene ccfDNA Tube atau Streck Cell-Free DNA Tube), silakan ikuti petunjuk produsen untuk pemisahan dan penyimpanan plasma. Kami merekomendasikan untuk memvalidasi kondisi penyimpanan ini dengan mengkombinasikan bersama target dan aplikasi downstream spesifik Anda.

Untuk BCT yang tidak distabilisasi, kami menyarankan untuk mengikuti ISO 20186-3:2019 Pemeriksaan diagnostik in vitro molekuler — Spesifikasi untuk proses pra-pemeriksaan untuk darah utuh vena — Bagian 3: DNA bebas sel yang beredar yang terisolasi dari plasma atau CEN/TS 17742 Pemeriksaan diagnostik in vitro molekuler — Spesifikasi untuk proses pra-pemeriksaan untuk darah utuh vena — RNA bebas sel yang beredar yang terisolasi dari plasma.

Untuk mengisolasi asam nukleat bebas sel yang beredar dari sampel darah, kami menyarankan untuk mengikuti protokol ini, yang mencakup langkah sentrifugasi gaya g tinggi untuk menghilangkan serpihan seluler, sehingga mengurangi jumlah RNA dan DNA genomik atau seluler dalam sampel.

1. Masukkan Darah EDTA utuh dalam tabung BD Vacutainer® (atau tabung darah primer lain yang berisi EDTA sebagai anti-koagulan) dalam alat sentrifugasi yang didinginkan hingga 4 °C dengan rotor berayun dan ember yang sesuai.
2. Sentrifugasi sampel darah selama 10 mnt pada 1900 x g (3000 rpm) pada suhu 4 °C.
3. Aspirasi supernatan plasma dengan hati-hati tanpa mengganggu lapisan antarmuka plasma-seluler. Sekitar 4–5 ml plasma dapat diperoleh dari satu tabung darah utama 10 ml.

**Catatan:** Plasma dapat digunakan untuk ekstraksi asam nukleat yang beredar pada tahap ini. Akan tetapi, sentrifugasi kecepatan tinggi berikut akan menghilangkan serpihan seluler dan kontaminasi lain dari asam nukleat yang beredar dengan RNA dan DNA genomik yang berasal dari sel darah nuklease yang rusak.

4. Plasma yang diaspirasi ditransfer ke dalam tabung sentrifugasi segar.
5. Sentrifugasi sampel plasma selama 10 mnt pada  $16.000 \times g$  (dalam rotor dengan sudut tetap) pada suhu  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Ini akan menghilangkan asam nukleat seluler lain yang melekat pada serpihan sel.

6. Lepaskan supernatan dengan hati-hati dan transfer ke tabung baru tanpa mengganggu pelet.
7. Jika plasma akan digunakan untuk ekstraksi asam nukleat di hari yang sama, simpan pada suhu  $2\text{--}8 \text{ }^{\circ}\text{C}$  hingga pemrosesan lebih lanjut. Untuk penyimpanan yang lebih lama, alikuot plasma dari tabung penampung darah yang distabilkan serta yang tidak distabilkan dapat disimpan pada suhu  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  (DNA sebagai target) atau  $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  (RNA sebagai target) selama minimum 4 minggu. Sebelum menggunakan plasma untuk ekstraksi asam nukleat yang beredar, cairkan tabung plasma pada suhu ruang.
8. **Opsional:** Untuk menghilangkan kriopresipitat, sentrifugasi sampel plasma selama 5 mnt pada  $16.000 \times g$  (dalam rotor dengan sudut tetap).

**Opsional:** Transfer supernatan ke tabung baru kemudian mulai dengan protokol ekstraksi asam nukleat yang beredar.

# Lampiran B: Catatan Umum tentang Penanganan RNA

## Penanganan RNA

Ribonukleat (RNase) sangat stabil dan merupakan enzim aktif yang secara umum tidak memerlukan kofaktor agar berfungsi. Karena RNase sulit dinonaktifkan dan bahkan jumlah yang sedikit cukup untuk menghancurkan RNA, jangan gunakan peralatan plastik atau peralatan kaca apa pun tanpa menghilangkan kontaminasi RNase yang mungkin terjadi terlebih dahulu. Perhatian penuh perlu dilakukan untuk menghindari kontak tidak sengaja antara RNase dengan sampel RNA selama atau setelah prosedur pemurnian. Guna menciptakan dan menjaga lingkungan bebas RNase, tindakan pencegahan berikut perlu dilakukan selama praperlakuan serta gunakan larutan dan pembuluh sekali pakai dan yang dapat dipakai ulang saat bekerja dengan RNA.

## Penanganan umum

Teknik aseptik dan mikrobiologi yang tepat harus selalu digunakan saat bekerja dengan RNA. Tangan dan partikel debu dapat membawa bakteri dan jamur dan merupakan sumber kontaminasi RNase yang paling umum. Selalu gunakan sarung tangan vinil atau lateks saat menangani reagen dan sampel RNA untuk mencegah kontaminasi RNase dari permukaan kulit atau dari peralatan laboratorium yang berdebu. Seringlah mengganti sarung tangan dan selalu tutup tabung jika memungkinkan. Simpan RNA yang dimurnikan di es saat alikotot dipipet untuk aplikasi hilir.

## Peralatan plastik sekali pakai

Penggunaan tabung polipropilena steril sekali pakai dan bebas RNase direkomendasikan selama prosedur ini.

## Informasi Pemesanan

Produk	Isi	No. Kat.
QIAamp DSP Circulating NA Kit (50)	Untuk 50 penyiapan: Kolom QIAamp Mini, Ekstensi Kolom, VacConnectors, QIAGEN Proteinase K, Reagen, Dapar, dan tabung pengumpulan	61504
Aksesori		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold*	Manifold vakum untuk memproses 1–24 kolom putar: QIAvac 24 Plus Vacuum manifold, Sumbat Suntikan, dan Kopling Cepat	19413
Vacuum Pump*	Pompa vakum universal	84010 [AS dan Kanada] 84000 [Jepang] 84020 [seluruh dunia]
QIAvac Connecting System*	Sistem untuk menghubungkan manifold vakum dengan pompa vakum: termasuk Baki, Botol Limbah, Slang, Kopling, Katup, Gauge, dan 24 VacValves	19419

\* Untuk digunakan dengan protokol vakum.

Untuk informasi pelisensian terbaru dan penafian produk-spesifik, lihat buku pegangan atau panduan pengguna kit QIAGEN. Buku pegangan atau panduan pengguna kit QIAGEN tersedia di [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) atau dapat dipesan dari Layanan Teknis QIAGEN atau distributor lokal Anda.

# Riwayat Revisi Dokumen

Revisi	Deskripsi
R1, Juni 2022	Rilis IVDR Kit Versi 2, tidak ada perubahan pada data protokol atau kinerja dibandingkan dengan Kit Versi 1; penambahan isolasi “manual” dalam tujuan penggunaan; perbaikan dan pembaruan kecil

Halaman ini sengaja dikosongkan

Halaman ini sengaja dikosongkan

### Perjanjian Lisensi Terbatas untuk QIAamp DSP Circulating NA Kit

Dengan menggunakan produk ini, setiap pembeli atau pengguna produk menyetujui ketentuan berikut:

1. Produk hanya boleh digunakan sesuai dengan protokol yang disediakan bersama produk dan buku pegangan ini dan hanya digunakan dengan komponen yang terdapat di dalam panel saja. QIAGEN tidak memberikan lisensi apa pun berdasarkan kekayaan intelektualnya untuk menggunakan atau menggabungkan komponen yang tersedia dengan panel ini dengan komponen apa pun yang tidak termasuk dalam panel ini kecuali sebagaimana dijelaskan dalam protokol yang disediakan dengan produk, buku pegangan ini, dan protokol tambahan yang tersedia di [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Beberapa protokol tambahan ini telah disediakan oleh pengguna QIAGEN bagi pengguna QIAGEN. Protokol-protokol tersebut belum diuji secara menyeluruh atau dioptimalkan oleh QIAGEN. QIAGEN tidak memberikan garansi atau menjamin bahwa pihaknya tidak melanggar hak pihak ketiga.
2. Selain lisensi yang dinyatakan secara tegas, QIAGEN tidak membuat jaminan bahwa panel ini dan/atau penggunaannya tidak melanggar hak-hak pihak ketiga.
3. Panel ini serta komponennya dilisensikan untuk penggunaan satu kali dan tidak boleh digunakan kembali, diperbarui, atau dijual kembali.
4. QIAGEN secara khusus menyangkal segala lisensi lain, yang dinyatakan secara tegas maupun tersirat selain yang dinyatakan secara tegas di atas.
5. Pembeli dan pengguna panel setuju untuk tidak mengambil atau mengizinkan orang lain mengambil langkah apa pun yang dapat menyebabkan atau mendukung tindakan apa pun yang dilarang di atas. QIAGEN dapat memberlakukan larangan Perjanjian Lisensi Terbatas ini di Pengadilan mana pun, dan akan memulihkan semua biaya investigasi dan Pengadilannya, termasuk biaya pengacara, dalam tindakan apa pun untuk menegakkan Perjanjian Lisensi Terbatas ini atau hak kekayaan intelektualnya yang terkait dengan panel dan/atau komponennya.

Untuk ketentuan lisensi yang diperbarui, lihat [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Merek Dagang: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, (QIAGEN Group); Agilent® (Agilent Technologies, Inc.); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); PAXgene® (PreAnalytiX GmbH); Tween™ (ICI Americas Inc.). Nama, merek dagang terdaftar, dll. yang digunakan di dalam dokumen ini, meski tidak secara khusus ditandai sebagaimana demikian, tidak akan dianggap tidak dilindungi oleh undang-undang.

Jun-2022 HB-3049-001 1127632 © 2022 QIAGEN, hak cipta dilindungi undang-undang.

